

ESTUDIO DESCRIPTIVO DEL PROTEOMA PLASMÁTICO DE PACIENTES AFECTADOS DE DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y DIABETES MELLITUS, TRATADOS CON VARDENAFILO

TESIS DOCTORAL - RICARDO BRIME MENÉNDEZ

TÍTULO

**ESTUDIO DESCRIPTIVO DEL PROTEOMA PLASMÁTICO DE
PACIENTES AFECTADOS DE DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y DIABETES
MELLITUS, TRATADOS CON VARDENAFILO**

TESIS DOCTORAL

RICARDO BRIME MENÉNDEZ

DIRECTORES DE LA TESIS

DR. CARLOS OLIVIER GÓMEZ

Jefe de Servicio de Urología. Hospital Universitario de La Princesa.

Profesor Asociado de la Universidad Autónoma de Madrid.

DR. ANTONIO LÓPEZ FARRÉ

Profesor de la Universidad Complutense de Madrid.

D. Carlos Olivier Gómez, Profesor Asociado de la Universidad Autónoma de Madrid y D. Antonio López Farré, Profesor de la Universidad Complutense de Madrid.

Informan que:

D. RICARDO BRIME MENÉNDEZ, natural de Madrid con D.N.I. 11851651-G. Licenciado en Medicina, Especialista en Urología y Especialista Facultativo de Área en el Servicio de Urología del Hospital Universitario de La Princesa, ha realizado, bajo nuestra dirección y asesoramiento directo, el trabajo de investigación “ESTUDIO DESCRIPTIVO DEL PROTEOMA PLASMÁTICO DE PACIENTES AFECTADOS DE DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y DIABETES MELLITUS, TRATADOS CON VARDENAFILO” y consideramos que reúne a nuestro criterio los requisitos científicos de originalidad y rigor metodológico suficientes para poder ser presentado como Tesis Doctoral ante el tribunal que proceda.

Y para que conste donde proceda, se expide la presente en Madrid, a 10 de diciembre de 2016.

Fdo: Dr. Carlos Olivier Gómez

Fdo: Dr. Antonio López Farré

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que me han dado siempre todo con una sonrisa y se han desvivido por lograr lo mejor para sus hijos. Por su apoyo y constancia. Porque sin ellos, sin su tesón y confianza, nada hubiera sido posible. Porque somos lo que somos y estamos donde estamos, gracias a ellos. El mérito es todo suyo. No hay suficientes páginas ni horas al día para agradecerles todo y las palabras siempre se quedarán cortas.

A mis hermanos Pelayo y Pilar. Por todo cuanto han hecho por mí en los buenos y en los malos momentos. Por estar siempre a mi lado sin más afán que el de ayudar, dar consejo, cariño, apoyo y ofrecerse a todo. Porque jamás podré darles las gracias suficientemente por tantas cosas. Por estar a mi lado y entenderme. Por compartir cada momento juntos.

A Carlos, por haberme animado siempre, por confiar en mí, por ofrecerme su apoyo y su amistad. Por haber dirigido este trabajo sin descanso y con una ilusión constante. Por compartir los éxitos y los tropiezos. Por tantos consejos y palabras sabias. Por todo lo que me ha dado. Espero estar a la altura de tanto cómo ha hecho.

A Antonio, por todo lo que he podido aprender a su lado. Por haberme dado su apoyo y ánimo en este trabajo. Por su disponibilidad y generosidad. Por hacer que todo esto sea posible y compartirlo conmigo.

“Fue sin querer, es caprichoso el azar...”

*“No te rindas, aún estás a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,
continuar el viaje,
perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo,
correr los escombros y destapar el cielo.”*

Mario Benedetti

“El hogar es donde habita el corazón”

Plinio el joven

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	13
1. Aspectos de la disfunción eréctil	14
1.1 Antecedentes históricos	14
1.2 Epidemiología de la disfunción eréctil	17
1.3 Fisiología de la disfunción eréctil	19
1.3.1 Hemodinámica de la erección y detumescencia	19
1.3.2 Regulación nerviosa	21
1.3.3 Fisiología de la contracción del músculo liso	23
1.3.4 Fisiología de la relajación del músculo liso	25
2. Etiología y factores de riesgo de la disfunción eréctil	27
2.1 Generalidades	27
2.2 Causas vasculares	29
2.2.1 Disfunción endotelial	29
2.2.2 Factores de riesgo cardiovascular	30
2.3 Causas neurógenas	32
3. Tratamiento médico de la disfunción eréctil	34
3.1 Escalones terapéuticos en el tratamiento de la disfunción eréctil	34
3.1.1 Primer escalón	34
3.1.2 Segundo escalón	36
3.1.2.1 Mecanismo de acción de los IPDE-5	36
3.1.2.2 Tipos de IPDE-5	37
3.1.3 Tercer escalón	39
3.1.3.1 Sistemas de vacío	39
3.1.3.2 Inyecciones intracavernosas	40
3.1.3.3 Alprostadil intrauretral	40
3.1.3.4 Alprostadil tópico	41

3.1.4 Cuarto escalón	41
4. Disfunción eréctil, marcador de riesgo cardiovascular	42
4.1 Justificación de la relación entre disfunción eréctil y riesgo de padecer enfermedad cardiovascular	43
4.2 La disfunción eréctil se puede manifestar antes de aparecer síntomas de isquemia coronaria.	44
4.3 Manifestación de la disfunción eréctil posterior al infarto de miocardio	45
5. Diabetes mellitus y disfunción eréctil	46
6. Vardenafilo y diabetes mellitus	48
7. Proteómica	50
CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS	57
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	61
CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODO	65
1.- Protocolo del estudio	66
1.1 Criterios de inclusión	66
1.2 Criterios de exclusión	67
1.2.1 Patologías médicas actuales o previas	67
1.2.2 Medicación concomitante	68
1.2.3 Valores anormales de laboratorio	68
1.2.4 Otros criterios de exclusión	69
1.3 Periodos de tratamiento	69
1.4 Recogida de muestras	70

2. Electroforesis bidimensional y espectrometría de masas	71
3. Verificación de los resultados	74
3.1 Células endoteliales de aorta bovina (CEAB)	74
3.2 Western blot para análisis de fosfodiesterasa-5 y subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (GCs)	75
3.3 Determinación de producción de nitrato/nitrito y GMPc en CEAB	76
4. Análisis estadístico	77
CAPÍTULO 5. RESULTADOS	79
1. Análisis descriptivo de la muestra	80
1.1 Variables demográficas	80
1.1.1 Edad	80
1.1.2 Sexo	81
1.2 Características clínico-patológicas	81
1.3 Medicación habitual	81
1.4 Grupos de tratamiento	82
1.5 Parámetros hemodinámicos y hormonales	82
2. Puntuación del cuestionario IIEF	83
3. Resultados del proteoma	84
3.1 Alfafetoproteína	85
3.2 Apolipoproteína AI	85
3.3 Apolipoproteína AIV	87
3.4 Beta tropomiosina	88
3.5 Desmoplaquina	89
3.6 Cadena gamma del fibrinógeno	90

3.7 Alfa 1 antitripsina	91
3.8 Proteína fijadora de vitamina D	93
3.9 Haptoglobina	94
4. Espectrometría de masas	95
5. Relación de la expresión de las proteínas plasmáticas con el resultado del IIEF	96
6. Relación entre los cambios en el cuestionario IIEF y la expresión de la beta tropomiosina en función de la dosis administrada de vardenafilo	98
7. Influencia del síndrome metabólico en la respuesta al tratamiento con vardenafilo	99
8. Liberación de Nitrato/Nitrito, expresión de fosfodiesterasa 5 y subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (sGC) y contenido de GMPc en las células endoteliales de aorta bovina	101
CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN	105
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES	131
CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA	135
ANEXO 1. FICHA TÉCNICA DE VARDENAFILO	159
ANEXO 2. CUESTIONARIO IIEF	225

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

- I. ASPECTOS DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL
2. ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL
3. TRATAMIENTO MÉDICO DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL
4. DISFUNCIÓN ERÉCTIL, MARCADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR
5. DIABETES MELLITUS Y DISFUNCIÓN ERÉCTIL
6. VARDENAFILO Y DIABETES MELLITUS

I. ASPECTOS DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL

I.1 Antecedentes Históricos

Para encontrar la primera mención a la disfunción eréctil a lo largo de la historia de la humanidad, tenemos que retroceder hasta el año 2000 a.C. donde se describieron en un papiro egipcio dos tipos de disfunción eréctil. Una de origen natural, por incapacidad del varón para poder llevar a cabo el acto sexual y otra de carácter sobrenatural, a consecuencia de maleficios o brujería.



Figura 1.
Grabado anatómico de Leonardo da Vinci

Más adelante, Hipócrates (460-370 a.C.) describió ciertos casos de disfunción sexual en la región de Escitia, en la estepa pónica, en sujetos de clase alta. Estos trastornos los relacionó con la monta a caballo en exceso. Observó, así mismo, que los sujetos de las clases más bajas, no padecían este trastorno.

Aristóteles (384-322 a.C.) sostuvo que los ramos nerviosos del pene (en número de tres), transportan energía y espíritu a este y provocan la erección del mismo, mediante la entrada de aire. Esta teoría sobre

una erección lograda a través del llenado peniano con aire, se mantiene durante los siguientes siglos¹.

En el siglo XVI, el genio florentino Leonardo di ser Piero da Vinci (1452-1519) que había recibido una importante formación en materia de anatomía (Figura 1) desde el comienzo de su aprendizaje bajo la tutela de Andrea del Verrocchio y, de hecho, tenía autorización para realizar disecciones de cadáveres humanos en el Hospital de Santa María Nuova de Florencia y con posterioridad en Milán y Roma, pone en tela de juicio esta teoría. En 1504 descubrió que los penes erectos de los cadáveres de los sujetos ahorcados estaban llenos de sangre y no de aire como se defendió con anterioridad.

La primera descripción precisa de la anatomía peniana se debe a Ambroise Paré (1507-1591) que realiza un estudio de la misma y del pene en erección en sus Diez Libros de Cirugía (Figura 2) y el Libro de la Reproducción en 1585².

Pierre Dionis (figura 3) en 1718 postuló que la contracción muscular colapsaría proxi-

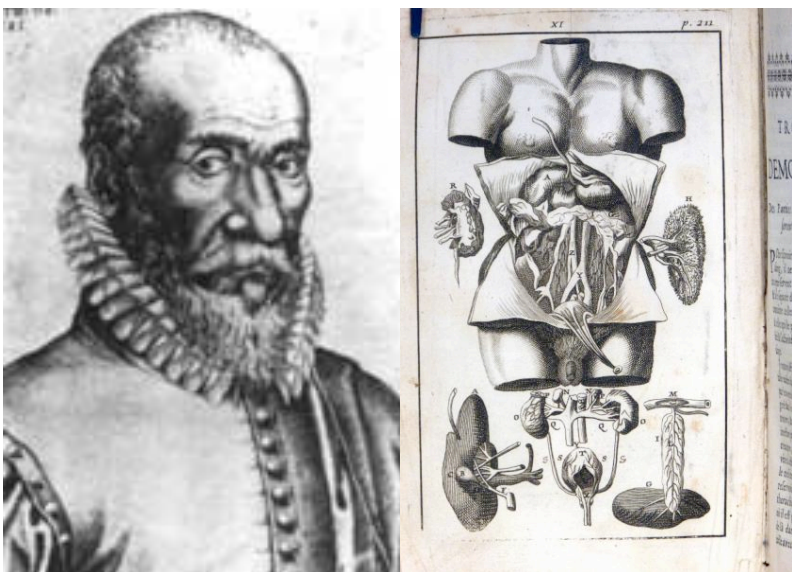


Figura 2.
Ambroise Paré (1507-1591)



Figura 3.
Pierre Dionis (1650-1718)

malmente las venas penianas, dificultando el drenaje venoso. En 1787, Hunter (figura 4) predijo que este fenómeno del acúmulo sanguíneo en el pene podía deberse a espasmos venosos a este nivel.

En la década de los 80 cuando se comenzó a entender la disposición de la túnica albugínea y su papel en la venooclusión y se descubre el papel del óxido nítrico (NO) para la obtención de la erección y la 5-fosfodiesterasa (PDE-5) en la resolución de la misma³.

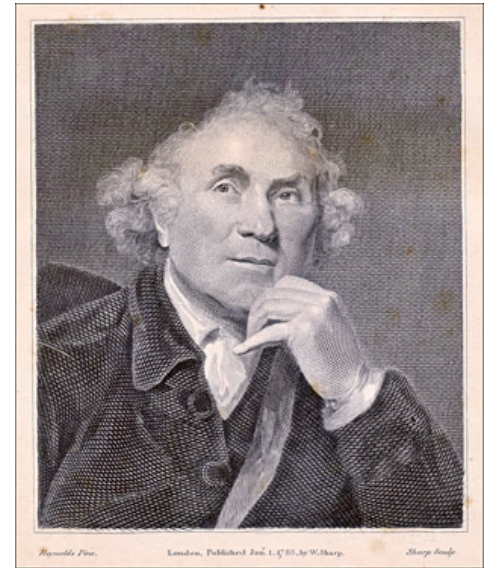


Figura 4.
John Hunter (1728-1793)

En 1992 se definió el término de Disfunción Eréctil (DE). La *National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Conference* nos ofrece la siguiente definición: “La incapacidad persistente y/o recurrente del varón de lograr y mantener una erección suficiente que permita una relación sexual”⁴.

Posteriormente, la DE, como entidad, ha quedado relegada por un concepto más amplio; las disfunciones sexuales en el varón.

El término incluye:

- Disfunción en el interés o deseo sexual.
- Disfunción eréctil.
- Eyaculación precoz.
- Aneyaculación.
- Disfunción orgásmica.
- Dispareunia.

Finalmente, en el 3rd *International Consultation on Sexual Medicine* celebrado en París en 2010 se estableció por consenso la actual definición de DE, como la “incapacidad persistente o recurrente de un hombre para alcanzar o mantener una erección suficiente que permita una relación sexual. Para establecer el diagnóstico se acepta una duración mínima de la misma de 3 meses. En algunos casos como aquellas postraumáticas o inducidas quirúrgicamente (como la derivada de la prostatectomía radical) el diagnóstico se puede dar antes de los 3 meses”⁵.

1.2 Epidemiología de la disfunción eréctil

Las primeras aportaciones en referencia a la prevalencia de la DE, datan de los años 90. El factor común en todos ellos es la estrecha relación con la edad y las enfermedades del ámbito cardiovascular.

El *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS)⁶ mostró una prevalencia de la DE del 52% (siendo leve en el 17%, moderada en el 25% y grave en el 10% de los casos) en pacientes no ingresados, entre 40 y 70 años de edad en el área de Boston. Este estudio demostró cómo la DE incrementa su prevalencia con la edad. Así a los 40 años, entorno al 40% de los hombres estudiados la padecen mientras que, a los 70 años la prevalencia alcanza el 70%.

La edad fue la variable que se asociaba con más fuerza a la DE. Otras variables que se estudiaron son la diabetes mellitus, hipertensión arterial, depresión y cardiopatía. En este estudio el consumo de alcohol no se relacionó con la DE y tampoco el tabaquismo demostró una mayor probabilidad de DE completa. Sin embargo, si aumentaba la probabilidad cuando se asociaba con hipertensión y enfermedad coronaria.

Con posterioridad con los datos obtenidos del MMAS⁷ se publicó la incidencia estimada de DE que era de aproximadamente 17781 nuevos casos en Massachusetts y 617715

nuevos casos en los Estados Unidos de América al año. La tasa de incidencia anual fue de 26 por cada 1000 varones.

El *Health Professionals Follow-up Study*^{8,9} realizado sobre una población de 31742 profesionales sanos (53-90 años) mostró una prevalencia de DE estandarizada por edades del 33%. En este caso tanto el sedentarismo como el sobrepeso y tabaquismo tienen un valor predictivo positivo.

La *Global Survey of Sexual Attitudes and Behaviors* (GSSAB)¹⁰ mostró unas tasas de prevalencia similares a la de los estudios previos a gran escala. Nuevamente los factores predictivos más comunes fueron los relacionados con la esfera cardiovascular: hipertensión arterial, diabetes mellitus y vasculopatía periférica.

En 1999 la *National Health and Social Life Survey* (NHSLs)¹¹, estudia la función sexual tanto en hombres como en mujeres. Se encuestan a 1410 hombres de edades comprendidas entre los 18 y los 59 años y en primer lugar relaciona el aumento de la edad con una mayor incidencia de DE. La prevalencia de la DE fue del 31%. Se aprecia que los problemas sexuales son muy prevalentes en la sociedad y que estos están relacionados tanto con factores generales de salud como con factores psicosociales. Se hace hincapié en que el estrés tanto de índole personal como social, inducen a un empeoramiento de la salud sexual en ambos sexos y también a un deterioro de la calidad de vida.

El *Multinacional men's attitudes to life events and sexuality study phase II* (MALES II)¹² nuevamente pone de manifiesto que la enfermedad cardiovascular es una de las entidades más relacionadas con la DE.

En la actualidad se considera que la DE afecta aproximadamente a 152 millones de personas en todo el mundo.

El estudio sobre *Epidemiología de la Disfunción Eréctil Masculina* (EDEM)¹³ realizado en nuestro país con una muestra de 2480 varones evidenció que el 19% de los varones de entre 25 y 70 años de edad según el cuestionario IIEF presentan DE en algún grado (16% mínima, 2% moderada y 1% severa). La prevalencia aumenta con la edad de los encuestados (25-39 años: 3,9%; 40-49 años: 6,3%; 50-59 años: 15,9%; 60-70 años: 32,2%).

1.3 Fisiología de la disfunción eréctil

1.3.1. Hemodinámica de la erección y detumescencia

En la fisiología del fenómeno de la erección se conjugan factores de índole vascular, regulado por diferentes señales nerviosas y dependiente tanto del estado hormonal como de procesos psíquicos. Estudios mediante tomografía por emisión de positrones (PET)¹⁴ sugieren que la excitación sexual es activada en centros corticales superiores que, a su vez, estimulan los núcleos medial, preóptico y paraventricular del hipotálamo. Finalmente, esas señales descenderán a través de una compleja red neuronal que estimula el sistema nervioso autónomo en la zona sacra.

Del equilibrio entre los flujos sanguíneos afluentes y efluentes de los cuerpos cavernosos, van a depender en gran medida los estados de erección y flacidez.

Fase de flacidez

Durante esta fase predomina el tono nervioso simpático ejerciendo una acción tónica, manteniendo una contracción parcial de las trabéculas cavernosas. En este momento la resistencia vascular es elevada y los sinusoides están colapsados, de modo que la presión en el interior de los cuerpos cavernosos es algo mayor a la de las venas (10 mmHg). Gracias a esta presión, la sangre puede salir sin dificultad de los cuerpos cavernosos. La pO₂ permanece en rangos de 35 mmHg.

Fase de erección

Se produce la inhibición del tono adrenérgico basal y la liberación de un poderoso vasodilatador no adrenérgico - no colinérgico (NANC), el óxido nítrico (NO). El NO se libera de nervios NANC y de las células endoteliales. A continuación, se estimula la enzima guanilato ciclasa en el músculo liso peniano, aumentando los niveles de guanosin monofosfato cíclico (GMPc) que provoca una relajación del músculo liso.

Todo esto se traduce en un aumento importante del flujo sanguíneo arterial, una relajación de las trabéculas con el consiguiente aumento de la distensibilidad y un aumento del tamaño del pene. (figura 5).

La tumescencia resultante comprime las venas y retiene el flujo venoso, consiguiendo alcanzar una mayor presión en el interior de los cuerpos cavernosos hasta 100 mmHg y aumenta la pO₂ hasta 90 mmHg.

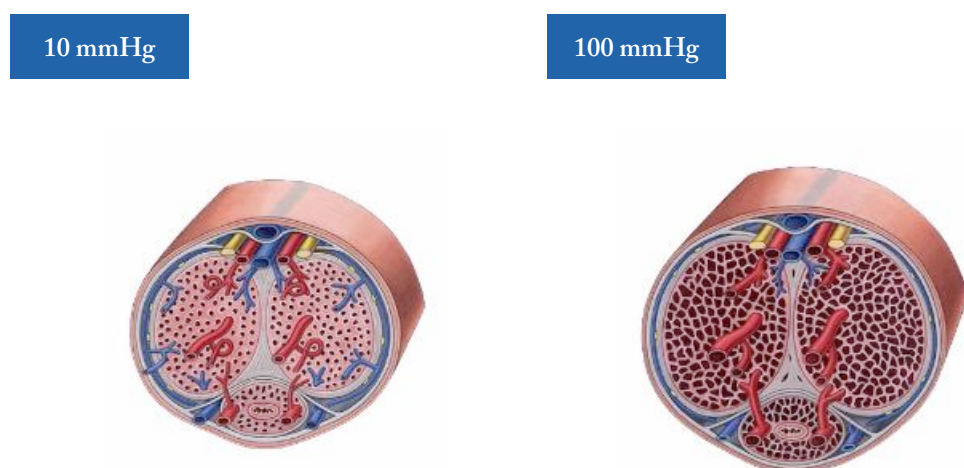


Figura 5.
Tumescencia y detumescencia

La acción concomitante de la contracción de los músculos perineales bulbocavernosos e isquiocavernosos, permite comprimir la porción más proximal de los cuerpos cavernosos en la base del pene y facultan alcanzar presiones que pueden superar a la presión sistólica.

Fase de detumescencia

Una vez cesan los estímulos neuromediados o bien por la descarga adrenérgica de la eyaculación, se produce la transición de nuevo al predominio del estado de vasoconstricción. En esta etapa concluye la dilatación arterial y la relajación del músculo liso a nivel de las trabéculas. El sistema venoso ya no está comprimido y se facilita, por tanto, la salida de la sangre y se vuelve al estado de reposo.

Por el contrario, a nivel del cuerpo esponjoso y el glándulo, a pesar del aumento del flujo arterial durante la erección, la presión no supera 30%-50% de la alcanzada en los cuerpos cavernosos. Esto es la consecuencia de que la túnica del cuerpo esponjoso es muy fina y casi ausente en el glándulo, con lo cual la oclusión del sistema venoso apenas es significativa.

I.3.2. Regulación nerviosa

La inervación del pene depende del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático) y del sistema somático (sensitiva y motora). Estos últimos son responsables de la contracción de la musculatura bulbocavernosa e isquiocavernosa.

Sistema nervioso autónomo

El sistema nervioso simpático tiene dos centros. Uno a nivel torácico y otro a nivel lumbar (T11 y L2 respectivamente). Las células de las cadenas ganglionares que se proyectan hacia el pene están localizadas en los ganglios sacro y caudal.

El sistema nervioso parasimpático se origina en segmentos sacros (S2-S4). Las fibras preganglionares transcurren dentro de los nervios pelvianos hacia el plexo pélvico, donde se unen con nervios simpáticos del plexo hipogástrico superior. Los nervios cavernosos son ramos del plexo pélvico.

La estimulación del plexo pelviano y los nervios cavernosos inducen el proceso de tumescencia. Por el contrario, la estimulación del tronco simpático origina la detumescencia.

La regulación somática proviene de receptores somatosensoriales cutáneos a nivel del pene, el glande y también a nivel de la uretra e interior de los cuerpos cavernosos. En el glande cabe destacar la existencia de gran cantidad de terminaciones nerviosas aferentes. Estas son terminaciones libres que provienen de fibras mielínicas Aδ y no mielínicas C, siendo diferentes al resto de regiones cutáneas.

Las fibras nerviosas de los receptores convergen y forman fibras del nervio dorsal del pene que posteriormente se unirán a otros nervios hasta convertirse en el nervio pudendo que ingresa en la médula en las raíces S2-S4. La activación de estas fibras, envían señales de dolor, temperatura y tacto por las vías espinotalámicas y espinoreticulares hasta el tálamo y el cortex sensitivo. Este nervio dorsal del pene no solo tiene una función somática sino que se ha demostrado que posee fibras nerviosas positivas para la NO sintetasa (NOs) de origen autónomo. Esto se traduce en que este nervio con ambos componentes (somático y autónomo) es capaz de tener un papel como regulador de la erección y también la eyaculación.

El núcleo de Onuf (S2-S4) es el centro regulador de la actividad vasomotora del pene. Las fibras nerviosas originadas a este nivel, transcurren junto a los nervios sacros hasta el nervio pudendo e inervan a los músculos isquiocavernosos y bulbocavernosos. La contracción de

estos es necesaria para la fase de erección rígida. Sin embargo, cabe destacar que la contracción rítmica del músculo bulbocavernoso es imprescindible para la eyaculación.

I.3.3. Fisiología de la contracción del músculo liso

Estudios tanto in vivo como in vitro demostraron que existen dos tipos de actividad registrada a nivel del cuerpo cavernoso¹⁵: espontánea e inducida por la actividad. La estimulación del campo con bajas frecuencias genera un descenso de la tensión y de la concentración intracelular del calcio¹⁶, mientras que la estimulación a altas frecuencias conlleva un aumento de la tensión y la concentración intracelular del calcio.

Por regla general, la respuesta a fármacos se correlaciona de la misma manera con un cambio en la concentración intracelular de calcio.

En un estudio sobre las isoformas de la miosina en células musculares lisas del cuerpo cavernoso se informó de que su composición era intermedia entre la del músculo liso de la aorta y el de la vejiga^{17,18}, que suelen presentar características tónicas y fásicas respectivamente.

Contracción del músculo liso del pene (fase de reposo)

El factor determinante para la contracción o la relajación del músculo liso peniano es la concentración libre de Ca^{2+} citoplasmática (sarcoplásmica).

Las terminaciones nerviosas adrenérgicas (figura 6) liberan noradrenalina que se une a receptores a nivel de las células musculares lisas (α_1 y α_2). Del mismo modo, las endotelinas y prostaglandinas $\text{F}_{2\alpha}$ procedentes de las células endoteliales desencadenan una reacción en cascada con la participación de la proteína G, la fosfolipasa C, diacilglicerol y la proteinkinasa C que desembocan en un aumento del inositol trifosfato (ITP) y del propio diacilglicerol.

Esto ocasiona la liberación de los depósitos de calcio intracelulares del retículo endoplasmático así como la apertura de canales de calcio en la membrana celular. El resultado final es un gran incremento de los niveles de calcio sarcoplasmático libre.

Los niveles elevados de calcio ocasionan que este se una a la calmodulina y expone los sitios de interacción con la kinasa de la cadena ligera de miosina. Cataliza la fosforilación de la cadena ligera de miosina y desencadena el ciclo de los enlaces cruzados de la miosina a lo largo de los filamentos de actina. Esto ocasiona la contracción muscular.

Por otro lado, la fosforilación de la cadena ligera activa a la ATPasa de miosina que hidroliza el ATP y proporciona energía para la contracción muscular.

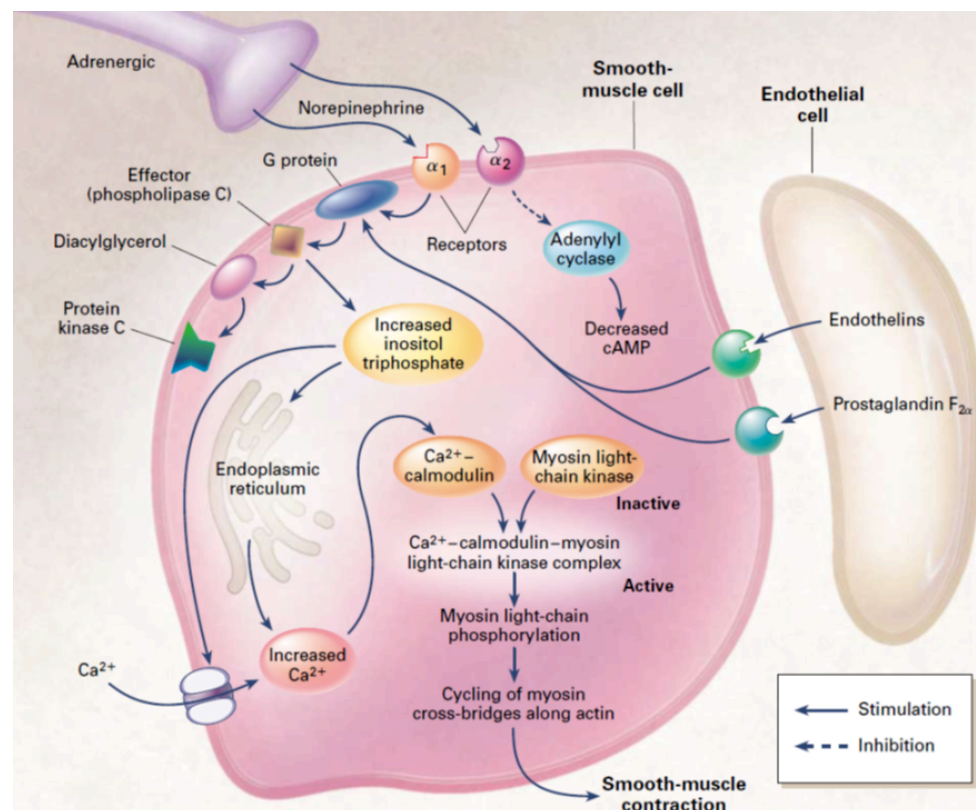


Figura 6.
Mecanismo de contracción del músculo liso peniano.
Erectile dysfunction. Lue TF. N Engl J Med. 2000 Jun 15;342(24):1802-13

Cuando disminuye el nivel de calcio intracitosólico, se activan vías sensibilizadoras de calcio (figura 7) mediante estimulación de receptores excitados de proteína G que aumentan la sensibilidad al calcio pese al descenso de los niveles del mismo. Esta proteína G es la RhoA, que activa la Rho kinasa que a su vez fosforila a la subunidad reguladora de la fosfatasa de miosina del músculo liso, inhibiéndola. De este modo se impide la defosforilación de los miofilamentos, manteniendo una contracción persistente¹⁹.

1.3.4. Fisiología de la relajación del músculo liso

Cuando los niveles de calcio disminuyen significativamente en el sarcoplasma, la calmodulina se disocia de la kinasa de la cadena ligera de miosina y la desactiva. La fosfatasa de la cadena ligera de miosina defosforila la miosina que se desprende de la actina y se produce la relajación muscular²⁰ (figura 8).

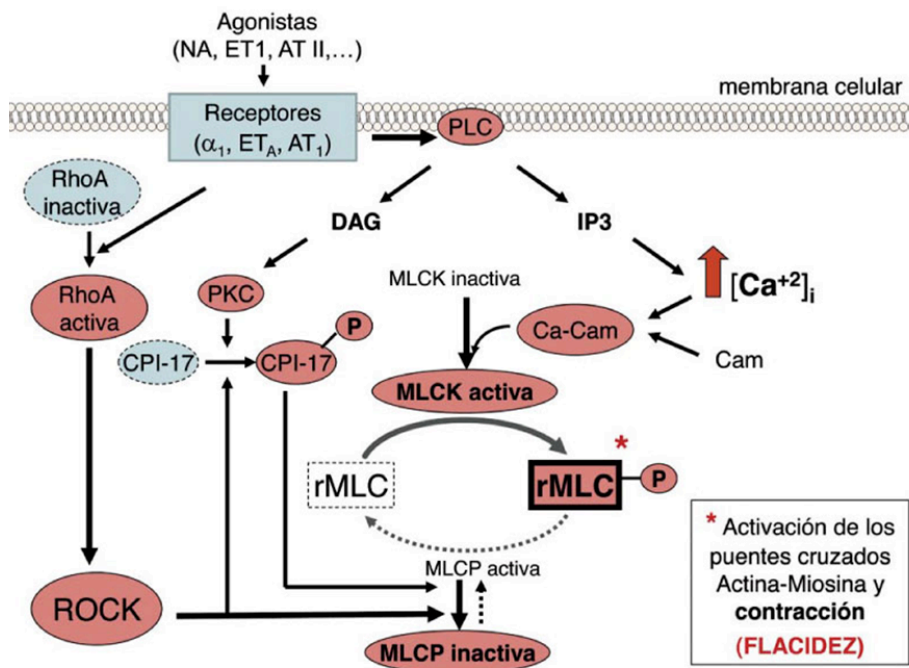


Figura 7.

Vía de sensibilización del calcio RhoA-Rho kinasa.

Mas Manuel. Bases moleculares de la erección. Arch. Esp. Urol 2010 Oct; 63(8): 589-598

Por otro lado, cabe destacar la participación en este proceso de los mensajeros primarios y secundarios. A través de la descarga colinérgica por parte del nervio cavernoso se estimula la sintetasa de NO endotelial con la liberación de NO. En paralelo la vía NANC del nervio cavernoso también provoca la liberación de NO, como mensajero primario.

El adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y el guanosin monofosfato cíclico (GMPc) son los segundos mensajeros que activarán proteinkinasa dependientes tanto de AMPc y GMPc respectivamente y fosforilan proteínas y canales iónicos que genera una cascada de acontecimientos con apertura de canales de potasio e hiperpolarización. El retículo endoplasmático recupera el calcio sarcoplásmico libre y se inhiben los canales de calcio, impidiendo la entrada del mismo a las células musculares. Todo esto consigue que se relaje la célula muscular lisa^{21,22}.

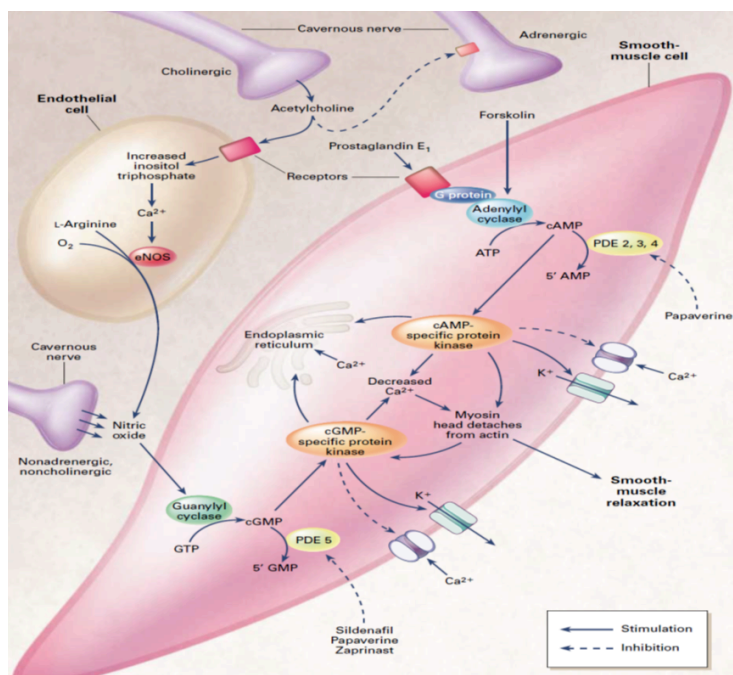


Figura 8. Mecanismo de relajación del músculo liso peniano.
Erectile dysfunction. Lue TF. N Engl J Med. 2000 Jun 15;342(24):1802-13.

2. ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL

2.1 Generalidades

Hay multitud de causas concurrentes en el desarrollo de la disfunción eréctil. Las más frecuentes de estas causas son el estado general de salud, la diabetes mellitus (DM), enfermedades cardiovasculares, otras enfermedades genitourinarias, trastornos tanto psicológicos como psiquiátricos, enfermedades crónicas, situaciones sociodemográficas. Cabe destacar, así mismo, la importancia de otros factores como el tabaquismo, fármacos, otros factores hormonales, etc.

En los hombres la diabetes presenta asociada una mayor pérdida del deseo sexual, disfunción orgásmica y por supuesto, disfunción eréctil. Este riesgo es más alto en los casos de DM con más de 10 años de evolución, mal control, presencia de factores agravantes como la neuropatía, vasculopatía, retinopatía o por supuesto la presencia de otros factores de riesgo como el tabaquismo.

La *American Society of Impotence Research* ha propuesto una clasificación²³ que agrupa las diferentes modalidades de la DE:

Causa orgánica

1. Vascular

- a. Arteriógena
- b. Cavernosa
- c. Mixta

2. Neurógena

3. Anatómica

4. Endocrina

Causa psicógena

1. Generalizada

- a. Falta de respuesta primaria
 - Ausencia primaria de excitación sexual
 - Disminución de la excitación sexual por la edad
- b. Inhibición generalizada.
 - Trastorno crónico de la intimidad sexual

2. Situacional

- a. Relacionada con la pareja
 - Falta de excitación en una determinada relación
 - Falta de excitación con la preferencia del objeto sexual
 - Inhibición central superior por conflicto o amenaza
- b. Relacionada con el rendimiento
 - Asociada con otros tipos de disfunción (vg. eyaculación precoz)
 - Ansiedad ante el rendimiento (miedo al fracaso)
- c. Trastornos psicóticos o de adaptación
 - Asociada con estados de ánimo negativos o situaciones de estrés importantes

2.2 Causas vasculares

La principal causa de la DE en los varones es de origen vascular²⁴. Diferentes estudios afirman que la presencia de factores de riesgo cardiovascular predispone a padecer DE^{25,26}. Cuantos más factores de riesgo se aúnan, el riesgo de padecer disfunción aumenta²⁷. Cabe destacar que muchos de estos factores están incluidos dentro del síndrome metabólico.

Los principales factores son:

- Tabaquismo.
- Hipertensión arterial.
- Dislipemia.
- Antecedente de infarto de miocardio.
- Cirugía cardíaca.
- Accidente cerebrovascular.
- Vasculopatía periférica.
- Aterosclerosis.

La disfunción eréctil está en íntima relación con el envejecimiento natural del varón, pero determinados factores de riesgo cardiovascular pueden determinar la gravedad de la misma.

2.2.1 Disfunción endotelial

Desde la primera descripción de la disfunción endotelial en 1986 por Ludmer²⁸ a nivel de las coronarias, se ha demostrado que la disfunción endotelial es el resultado final de la evolución de los factores de riesgo cardiovascular. Estos desembocan en una deficiente síntesis, liberación y actividad del óxido nítrico por el endotelio vascular²⁹. Esta disfun-

ción endotelial deteriora la capacidad peniana para lograr y mantener la erección y acaba ocasionando disfunción eréctil³⁰. La patología cardiovascular, la disfunción endotelial y la disfunción eréctil tienen una estrecha relación³¹.

El endotelio vascular peniano es indispensable en el proceso de modulación del tono vascular y el flujo sanguíneo local en respuesta a estímulos hormonales, nerviosos y mecánicos. El endotelio libera factores que modulan la contracción y relajación del músculo liso vascular.

Cuando la disfunción endotelial se manifiesta, la actividad reguladora endotelial se ve alterada y la consecuencia es la disminución de la respuesta a mediadores de vasodilatación junto con un aumento de la sensibilidad a factores vasoconstrictores.

El óxido nítrico es un potente vasodilatador e interviene en diferentes funciones antiaterogénicas del endotelio arterial. Limita el reclutamiento vascular de los leucocitos por inhibir la expresión de citoquinas proinflamatorias, quimiocinas y moléculas de adhesión de leucocitos^{32,33}. Inhibe la proliferación del músculo liso vascular y limita la trombosis intravascular. En el contexto de los factores de riesgo, la pérdida de la actividad biológica del endotelio se acompaña de otras alteraciones en el fenotipo endotelial que aumentan aún más la tendencia a la vasoconstricción, la trombosis, la inflamación y proliferación celular en la pared vascular. Así, la pérdida de óxido nítrico y la disfunción endotelial tienen el potencial de contribuir a acontecimientos fundamentales en el curso de la aterosclerosis humana³⁴ en el contexto del deterioro de la vasodilatación endotelio-dependiente.

2.2.2 Factores de riesgo cardiovascular

Diferentes enfermedades como la hipertensión, dislipemia, diabetes mellitus, hiperhomocisteinemia y aterosclerosis comparten importantes factores de riesgo cardiovascu-

lar^{35,36}. La pieza clave de la disfunción endotelial es la pérdida de óxido nítrico. Esta es más frecuente en las primeras fases de la enfermedad. Mientras que la enfermedad aterosclerótica suele predominar en territorios vasculares centrales, la disfunción endotelial mediada por la disminución de NO suele ser generalizada y afecta al territorio peniano.

El endotelio que rodea los espacios lacunares del cuerpo cavernoso resulta clave para la homeostasis vascular local regulando la función vasomotora y la regulación del flujo sanguíneo del pene. El NO endotelial es el principal promotor para la relajación del músculo liso^{37,38}. La mediación de este favorece y mantiene la erección³⁹, pero la disminución o ausencia del mismo provoca una disfunción endotelial que deteriora notablemente la vasodilatación y provoca disfunción eréctil^{40,41}. De hecho en la DE mediada por disfunción endotelial, se comprueba que la tensión de oxígeno sanguíneo del cuerpo cavernoso es menor que en la DE psicógena⁴².

La síntesis de prostaglandina es oxígeno dependiente. En modelos animales y en el cuerpo cavernoso humano se pone de manifiesto que un aumento de la tensión de oxígeno asocia una mayor síntesis de PGE2 y una reducción de la síntesis de colágeno mediada por TGF- β 1^{43, 44}. Por el contrario, la reducción en la tensión de oxígeno disminuye el músculo liso trabecular cavernoso con la consiguiente alteración de la erección.

Diferentes trabajos han relacionado la presencia de DE como predictor y factor pronóstico de la enfermedad cardiovascular. De hecho, la DE orgánica (es decir, aquella con una etiología física subyacente) y la enfermedad arterial coronaria están estrechamente vinculadas ya que ambas son consecuencia de la disfunción endotelial que condiciona restricciones en el flujo de sangre. De esta manera, así como la angina de pecho se considera una manifestación clínica de un trastorno en la vasculatura coronaria, también

la DE se puede considerar una manifestación clínica de una enfermedad vascular que afecta a la vascularización del pene.

En el estudio *Massachusetts Male Angin* (MMAS), los varones con DE tenían un riesgo 26% mayor de mortalidad por cualquier causa y un 43% mayor de muerte por enfermedades cardiovasculares, en comparación con los hombres sin DE⁴⁵. De hecho, la DE predecía la mortalidad por enfermedad cardiovascular, tanto como los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

En el estudio ONTARGET la DE fue también significativamente predictiva de muerte por cualquier causa. En aquellos pacientes que asociaban enfermedad cardiovascular, se asoció a mayor muerte por infarto de miocardio, accidente cerebrovascular e insuficiencia cardíaca⁴⁶.

2.3 Causas neurógenas

La erección peniana es un complejo mecanismo que requiere la interacción del sistema vascular, nervioso, endocrino y también tiene un importante componente psicológico. Se estima una prevalencia de entre el 10 y el 19% de DE neurógena⁴⁷.

El pene recibe inervación del sistema nervioso parasimpático sacro a nivel de las raíces sacras S2 y S4, mediante el nervio pélvico; del sistema nervioso simpático toracolumbar en las raíces T10-L2, a través del nervio hipogástrico y también tiene una inervación somática mediada por el nervio pudendo^{48,49}. También están implicadas las vías hipotalámicas y límbicas en el papel de la erección. Del mismo modo, diferentes centros supraespinales como los núcleos dorsomedial, ventromedial y paraventricular del hipotálamo, el núcleo de Barrington protuberancial, el locus coeruleus y la sustancia gris periacueductal⁵⁰.

Por lo tanto, cualquier enfermedad que afecte al sistema nervioso central, desde el cerebro, la médula espinal o los nervios periféricos, puede ocasionar la instauración de la DE.

Causas de disfunción eréctil neurógena

- Epilepsia.
- Esclerosis múltiple.
- Lesiones medulares.
- Accidentes cerebrovasculares.
- Enfermedad de Parkinson.
- Encefalitis.
- Enfermedad de Alzheimer.
- Síndrome de Shy-Drager.
- Traumatismos.
- Fracturas pelvianas.
- Traumatismos.
- Neuropatía periférica.

La neuropatía diabética asocia, como veremos más adelante, tanto las alteraciones de pequeñas fibras nerviosas, tanto mielinizadas como desmielinizadas, junto con un deterioro de la relajación dependiente de factores endoteliales, mediados por el óxido nítrico⁵¹⁻⁵³.

3. TRATAMIENTO MÉDICO DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL

El tratamiento de la DE es complejo dado que es un proceso multifactorial en el que hay que tener en cuenta tanto los factores psicológicos, vasculares, endocrinos como por supuesto los neuronales.

3.1 Escalones terapéuticos en el tratamiento de la disfunción eréctil

3.1.1 Primer escalón

Es crucial tratar de determinar la etiología subyacente. Para ello en primer lugar hay que tener en consideración factores previos como el uso de otros medicamentos por parte del paciente tales como antidepresivos, antihipertensivos y betabloqueantes, que tienen una incidencia clara en desencadenar DE en pacientes que son sometidos a tratamientos con los mismos⁵⁴.

También es fundamental identificar y actuar sobre diferentes factores de riesgo cardiovascular como el hábito tabáquico, la obesidad, hipertensión arterial y dislipemia. A veces sólo la intervención sobre estos factores, puede resultar suficiente para mejorar la situación del paciente con disfunción eréctil y para prevenir el empeoramiento de la misma secundaria a estos factores⁵⁵.

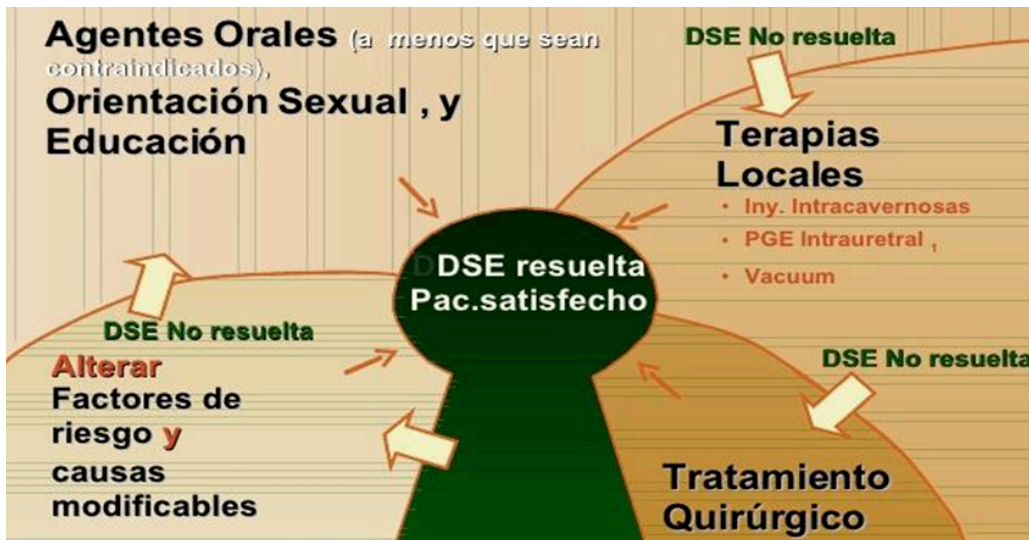


Figura 9.

Escalones terapéuticos en el tratamiento de la disfunción eréctil. Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al. Recommendations of the 1st International Consultation on Erectile Dysfunction. Plymouth, UK: Health publication, Ltd;2000: 711-26

El principal objetivo en esta fase del tratamiento es modificar los factores de riesgo sobre los que nos es posible realizar una intervención, como ya se ha mencionado con anterioridad e incidir sobre cambios en los hábitos y el estilo de vida.

La pérdida de peso y el aumento de la actividad física junto con el tratamiento médico de los factores de riesgo cardiovascular, son eficaces para mejorar la función sexual de estos pacientes ^{56,57}.

Un estudio realizado sobre varones afroamericanos y caucásicos demostró que el aumento del ejercicio físico, mejoraba significativamente la función sexual⁵⁸.

En otra publicación encontramos que el bypass gástrico mejora los niveles de testosterona y disminuye la disfunción eréctil⁵⁹.

En cuanto a los varones que sufren disfunción eréctil y síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), encontramos que el tratamiento con ventilación mediante presión positiva (CPAP) mejora la función sexual en algunos estudios^{60,61}, mientras que no queda claro este beneficio en otros estudios^{62,63}.

La retirada del tabaquismo mejora sustancialmente el grado de disfunción eréctil de los pacientes^{64,65}.

3.1.2 Segundo escalón

En este estadio resulta importante ofrecer orientación, educación y consejo sexual al paciente y su pareja como primera medida.

En este punto se recomienda como primera medida farmacológica la administración de inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (IPDE-5) por su facilidad de uso, eficacia y seguridad.

Las opciones de que disponemos hoy en día son Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil y Avanafil. Su eficacia es equivalente entre ellos, pero cabe destacar que Tadalafil presenta la mayor duración mientras que Avanafil es el de acción más rápida.

3.1.2.1 Mecanismo de acción de los IPDE-5

La función de los IPDE-5 (figura 10) se centra en la inhibición de la degradación de la guanosina monofosfato cíclica (GMPc). De este modo permanece activo el principal mediador del óxido nítrico para mantener la erección mediante la relajación del músculo liso peniano.

De este modo y tras la estimulación sexual necesaria, una vez puesto en marcha el mecanismo de la erección mediante la liberación de NO en las terminaciones nerviosas,

los IPDE-5 aumentan la respuesta eréctil por una acción de inhibición competitiva de la enzima fosfodiesterasa-5, pero no la generan si los mecanismos previos no se han iniciado.

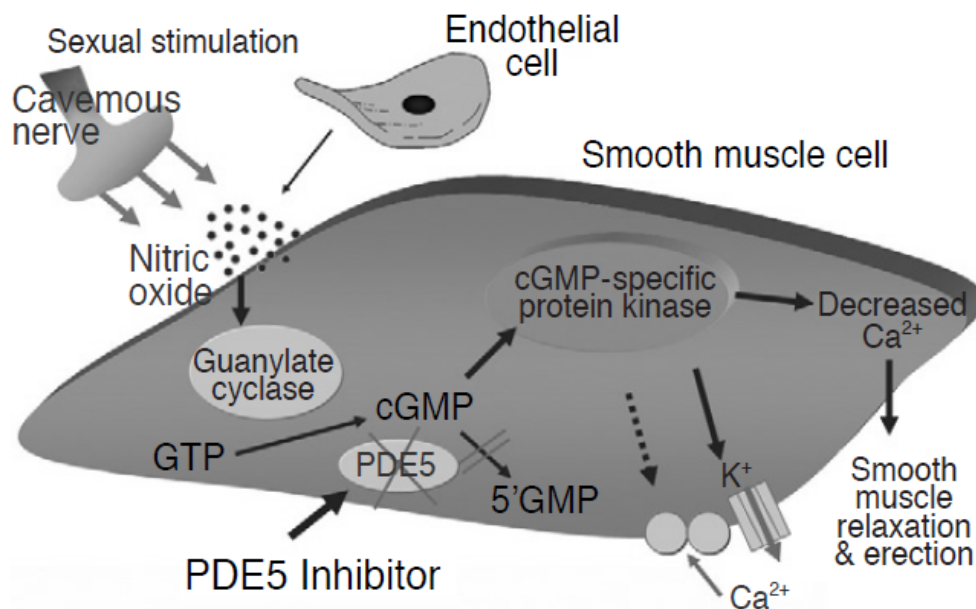


Figura 10.

Mecanismo de acción de los inhibidores de la fosfodiesterasa-5.

Sik W. Pharmacological Management of Male Sexual Dysfunction. J Korean Med Assoc. 2008 Aug;51(8):770-778

3.1.2.2 Tipos de IPDE-5

I. Sildenafil

Diferentes estudios y ensayos clínicos han probado que esta molécula es eficaz para el tratamiento de pacientes con DE. En un metaanálisis se comparó la eficacia de Sildenafil frente a placebo con una tasa de éxito netamente superior en el caso del uso de este fármaco (57% frente a 21%)⁶⁶.

En pacientes con DE y diabetes mellitus se han obtenido también resultados satisfactorios⁶⁷. También se ha probado el efecto beneficioso de esta molécula en pacientes sometidos a prostatectomía radical y radioterapia, como tratamiento de rescate de la DE secundaria^{68,69}.

II. Vardenafilo

Este fármaco comparte una estructura molecular parecida a su precedente y con una eficacia, duración y perfil de efectos secundarios semejantes a sildenafil pero no se desarrollaron estudios comparativos entre estas dos moléculas⁷⁰.

La eficacia es similar a sildenafil, con una tasa de éxito en los estudios también superior a placebo (65-80% frente a 50%)⁷¹⁻⁷³.

Es un fármaco que ha demostrado su eficacia en pacientes diabéticos con DE⁷⁴ y tras prostatectomía radical con preservación nerviosa⁷⁵.

III. Tadalafilo

A diferencia de sus predecesores, Tadalafilo presenta una estructura molecular diferente. Como ocurría previamente, tampoco tenemos estudios comparativos con este fármaco y los demás IPDE-5.

La principal diferencia con sildenafil y vardenafilo radica en la duración de su efecto, que es superior en el tiempo^{76,77}.

Otra de las diferencias es que se ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la DE completa, que suelen no responder bien a la toma puntual de IPDE-5, con buenos resultados⁷⁸.

Tadalafilo también ha recibido la aprobación para el tratamiento de pacientes con DE y síntomas del tracto urinario inferior.

IV. Avanafil

Este fármaco ha sido aprobado recientemente. Como principal diferencia cabe remarcar que tiene una mayor selectividad por la fosfodiesterasa-5 que los fármacos que lo preceden. Otro hecho notorio es su rapidez de acción, siendo efectivo a los 30 minutos de su toma a dosis de 50mg y a los 15 minutos de la toma con dosis de 100 y 200mg⁷⁹.

3.1.3 Tercer escalón

3.1.3.1 Sistemas de vacío

En este grupo se recomienda el uso de dispositivos de vacío para asistir la erección, que mediante un sistema de presión negativa consiguen el llenado de los cuerpos cavernosos del pene y por tanto la erección, que será mantenida mediante el uso de anillos compresivos penianos para evitar la fuga de sangre de los mismos y poder mantener una erección suficiente como para mantener relaciones sexuales.

No es inusual que los pacientes que utilicen este sistema, tengan problemas a la hora de la eyaculación puesto que los anillos penianos comprimen igualmente los cuerpos cavernosos como el cuerpo esponjoso y la uretra, lo que dificulta que esto suceda.

El grado de satisfacción de los pacientes con este tipo de dispositivo es muy variable⁸⁰.

La combinación de IDE-5 junto con sistemas de vacío puede lograr el éxito a la hora de lograr una erección suficiente para la penetración⁸¹.

3.1.3.2 Inyecciones intracavernosas

Las inyecciones en el cuerpo cavernoso de Alprostadil (prostaglandina E1) tienen un efecto vasodilatador que favorece el desarrollo de erecciones en los pacientes con DE.

El sistema nervioso simpático mantiene el pene en estado de flacidez de manera habitual. El uso de sustancias vasoactivas a nivel de los cuerpos cavernosos penianos logra sobrepasar la inhibición simpática de la erección actuando como un potente vasodilatador actuando directamente sobre el músculo liso.

Es necesario el adecuado adiestramiento de los pacientes para el uso de este tipo de dispositivo y para la correcta inyección del fármaco^{82,83}.

Esta modalidad de tratamiento es muy eficaz, con un efecto rápido logrando la erección peniana con una duración dosis dependiente⁸⁴. Sin embargo y pese a ser un tratamiento que ha probado su eficacia, su uso es limitado debido a la alta tasa de abandonos, muchos derivados de la modalidad de tratamiento por miedo a la punción peniana.

3.1.3.3 Alprostadil intrauretral

Una alternativa viable a las inyecciones intracavernosas y menos invasiva para el paciente es la administración de Alprostadil (prostaglandina E1) en dispositivos intrauretrales que permiten depositar el fármaco a este nivel.

Se ha realizado un ensayo clínico doble ciego para evaluar la eficacia del alprostadil intrauretral en pacientes con DE crónica por diferentes causas. Dos tercios de los pacientes del estudio tuvieron una respuesta óptima al alprostadil intrauretral, pudiendo mantener relaciones sexuales satisfactorias frente a placebo (65% frente a 19%)⁸⁵.

Sin embargo, esta vía de administración del fármaco se considera menos efectiva que las inyecciones intracavernosas⁸⁴.

3.1.3.4 Alprostadil tópico

La crema de alprostadil combina el efecto conocido de la prostaglandina E1 junto con una formulación que hace muy sencilla su utilización. En su presentación combina la prostaglandina junto con DDAIP.HCI (un éster de la N-dimetilalanina y dodecanol) que hace que se pierdan temporalmente las uniones fuertes de las células epiteliales, como resultado de su interacción con la región polar de la membrana de fosfolípidos en la membrana plasmática⁸⁶⁻⁸⁸.

La presentación tópica ha demostrado su eficacia en diferentes estudios fase II y en ensayos fase III, frente a placebo, con un perfil de tolerabilidad y efectos secundarios óptimo⁸⁹⁻⁹².

3.1.4 Cuarto escalón

En los casos en los que las anteriores modalidades de tratamiento sean ineficaces para resolver la disfunción eréctil o exista una insatisfacción por parte del paciente, la opción última es la cirugía.

En caso de pacientes jóvenes, con lesiones obstructivas en la arteria peniana o pudenda y sin factores de riesgo desde el punto de vista cardiovascular, se puede plantear una cirugía de revascularización, pero los resultados son controvertidos y no están globalmente aceptados.

Salvo esta excepción, la modalidad de tratamiento quirúrgica consiste en la implantación de una prótesis peniana. Es un tratamiento definitivo e irreversible en tanto que se destruye, previo al implante, el tejido de los cuerpos cavernosos, por lo que no se puede plantear ninguna acción ulterior.

4. DISFUNCIÓN ERÉCTIL MARCADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Tanto la enfermedad cardiovascular como la DE, son problemas sanitarios de primer orden especialmente en países industrializados y en los que están en vías de desarrollo. La principal expresión de la enfermedad cardiovascular es la cardiopatía isquémica (CI) la cual, a su vez, es la responsable del infarto agudo de miocardio.

La enfermedad cardiovascular sigue siendo una de las principales causas de muerte en el mundo, se estima que más de 17 millones de personas mueren cada año en todo el planeta por esta patología. La prevalencia de la enfermedad cardiovascular (ECV) evaluada por la *American Heart Association* muestra que en los varones de 45-54 años es del 6.7%; entre los 55-64 años es del 13.1%; resulta del 17.7% entre los 65-74 años y del 18,6% para los mayores de 75 años⁹³.

En España el estudio *DORICA* (dislipemia, obesidad y riesgo cardiovascular) realizado por parte de las sociedades españolas para el estudio de la Obesidad, Arterioesclerosis, Endocrinología y Nutrición, Medicina Interna y Nutrición comunitaria, establecen que en torno a un 40% de todas las muertes en nuestro país tienen este origen; hecho que ha sido constatado en otros estudios epidemiológicos en los cuales se establece que las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en el conjunto de la población española, donde en el 2001 causaron 124.245 muertes o el equivalente al 34,5% de todas las defunciones acaecidas en España ese mismo año⁹⁴.

Se estima que casi la mitad de los casos de DE en varones mayores de 50 años son de origen vascular. Durante la fisiología normal de la erección, se debe producir una dilatación de las arterias y arteriolas que llevan la sangre a los cuerpos cavernosos del pene los cuales están configurados con sinusoides recubiertos de células endoteliales. Si los vasos no están permeables por un proceso de arteriosclerosis, o bien estos no se dilatan o relajan adecuadamente, existirá una dificultad al paso del flujo sanguíneo. La disfunción endotelial, es una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular arterioesclerótica y es un proceso que puede detectarse antes de que en los vasos sanguíneos se forme la placa arterioesclerótica.

El primer estudio que puso en evidencia la estrecha relación entre DE y riesgo cardiovascular fue el MMAS (*Massachusetts Male Aging Study*), realizado en EE.UU. entre 1.290 varones de edades comprendidas entre 40 y 70 años. El estudio mostró que la prevalencia de DE de cualquier grado era del 52% (mínima: 17%, moderada: 25%, severa: 10%) y además evidencio que hasta el 74% de los pacientes con riesgo cardiovascular y el 67% de los pacientes postinfarto presentaban DE.

Posteriores evidencias confirmaron estos resultados, lo cual mostraba a la DE como un posible marcador precoz de una cardiopatía isquémica (CI) latente, hecho de gran relevancia clínica.

4.1 Justificación de la relación entre DE y riesgo de padecer enfermedad cardiovascular

En primer lugar, las causas de DE y la población que la sufre comparten los mismos factores de riesgo que la CI: hipertensión, diabetes, hipercolesterolemia, tabaquismo, obesidad, hiperlipidemia... Además, las exploraciones radiológicas de los vasos sanguíneos en

pacientes con CI como es la angiografía han demostrado una correlación significativa entre el número de vasos ocluidos y la función eréctil.

4.2 La DE se puede manifestar antes de aparecer síntomas de ischemia coronaria

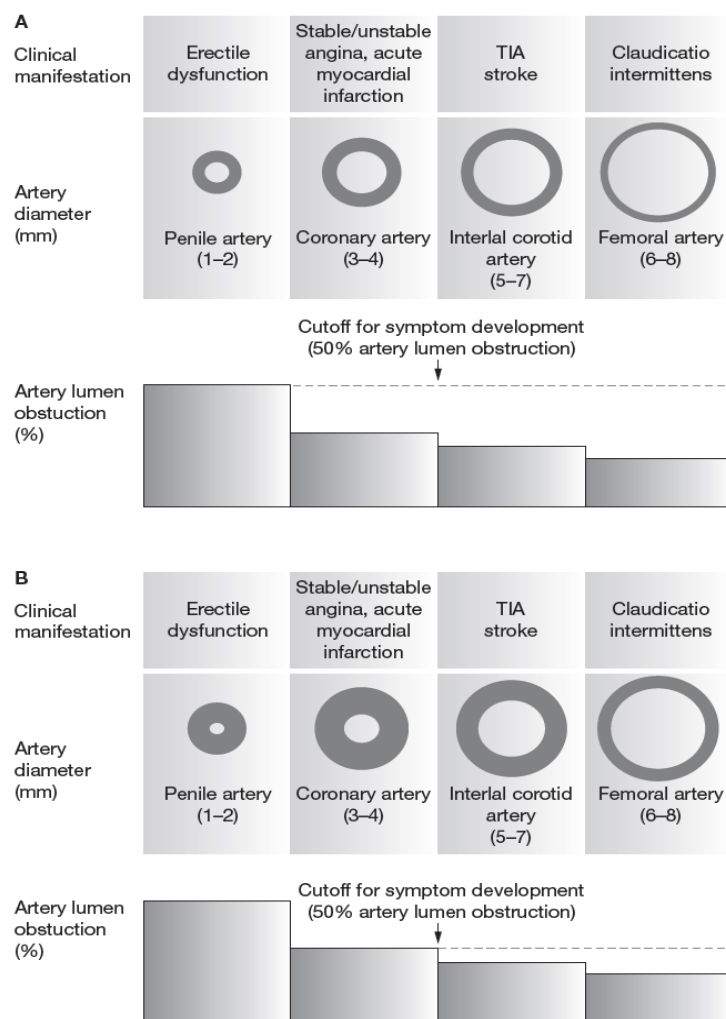


Figura 11.

Teoría del calibre arterial.

Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, et al. The artery size hypothesis: a macrovascular link between erectile dysfunction and coronary artery disease. Am J Cardiol. 2005 Dec 26;96(12B):19M-23M.

Las arterias del pene tienen un calibre inferior a las coronarias (1-2 mm de diámetro vs 3-4 mm de diámetro) y son de las primeras en sufrir los estragos de la arterioesclerosis (figura 11). Así, es posible que una placa arterioesclerótica del mismo tamaño pueda comprometer el riego de las arterias peneanas y no en otras arterias más gruesas. Estos datos anatómicos se relacionan con los estudios clínicos que muestran a la DE como un marcador precoz de las enfermedades cardiovasculares. Hasta en el 64% de los pacientes con DE de origen vascular sufrió más adelante un infarto de miocardio, manifestándose la DE clínicamente antes que el paciente supiera que padecía un proceso cardiovascular. El 57% de los pacientes que tuvieron que intervenir de un proceso CI padecían DE.

4.3 Manifestación de la DE posterior al infarto de miocardio

Además de los mencionados factores de riesgo de CI asociados igualmente a la DE, como: hipertensión, diabetes, hipercolesterolemia, tabaquismo, etc. hay que añadir la medicación administrada en estos pacientes, el miedo de repetición del infarto durante la fase de excitación sexual y la inhibición del deseo sexual que se manifiestan en el 50% de los casos. Hasta el 25% de los pacientes abandonan la actividad sexual tras presentar un infarto agudo de miocardio; el 50% disminuyen la frecuencia, y sólo el 25% reanudan su actividad sexual previa⁹⁵.

5. DIABETES MELLITUS Y DISFUNCIÓN ERÉCTIL

La prevalencia de la DE es mayor en los pacientes con diabetes mellitus (DM). Estos pacientes presentan un riesgo mayor de sufrir DE⁹⁶.

La DE tiene una prevalencia del 50% en pacientes varones con DM⁹⁷ y ocurre con mayor frecuencia en los pacientes más jóvenes con DM insulín dependiente. Además, la incidencia de resistencia a la insulina en los pacientes con DE es tres veces superior a la que presenta la población general⁹⁸.

Un trabajo en pacientes de la cohorte del estudio *Health Professionals Follow-Up Study* reportó que los pacientes con DM tienen un riesgo de DE ajustado por la edad de 1.32 (95% IC 1.3-1.4) comparado con aquellos sin DM⁹⁶, siendo el riesgo de padecerla mayor en aquellos que sufren DM tipo 1 frente al tipo 2. También el riesgo de DE es mayor en los pacientes que sufren diabetes durante más años, siendo especialmente marcado en aquellos con una duración mayor de 20 años.

El riesgo de DE en pacientes con DM aumenta en aquellos que sufren comorbilidades asociadas a la propia diabetes, tales como alteraciones cardiovasculares, enfermedad renal crónica, retinopatía, etc.⁹⁹⁻¹⁰¹. Como ya describimos previamente, la DE es un marcador precoz de la patología cardiovascular, particularmente en los pacientes con DM¹⁰².

Los IPDE-5 han probado su eficacia en estos pacientes, actuando de forma activa sobre la disfunción endotelial, con un importante impacto sobre la salud de los enfermos¹⁰³.

No podemos perder de vista que la DM ocasiona DE debido a numerosos mecanismos tales como la disfunción endotelial, cambios en el músculo liso de los cuerpos cavernosos, neuropatía y alteraciones en el ámbito hormonal^{104,105}.

La neuropatía diabética se debe a trastornos neurodegenerativos que ocasionan una disminución de la actividad del óxido nítrico sintetasa. Esto causa un descenso del óxido nítrico. Todas estas alteraciones provocan un problema en la relajación a nivel de los cuerpos cavernosos penianos. La suma de esta cascada ocasiona un estrés oxidativo con un aumento de los radicales libres de oxígeno^{106,107}.

La hiperglucemia ocasiona el acúmulo de productos de la glicosilación que provocan el engrosamiento vascular, con la consiguiente pérdida de la elasticidad de los mismos y asociando fenómenos relacionados con la aterosclerosis. Estos productos provocan también la disminución de la actividad del óxido nítrico endotelial y neuronal siendo resultantes de un trastorno en la dilatación de los cuerpos cavernosos penianos. Todo esto se suma a un aumento de la endotelina-1 y sus receptores que provocan la vasoconstricción local, empeorando de forma sustancial los trastornos vasculares locales¹⁰⁸⁻¹¹⁰.

6. VARDENAFILO Y DIABETES MELLITUS

La molécula de vardenafilo (Anexo 1), como se ha explicado previamente, tiene una acción como inhibidor de la fosfodiesterasa-5 siendo altamente efectivo en los pacientes con DM.

Es importante conocer la eficacia de este IPDE-5 en poblaciones específicas como la que estamos estudiando.

En modelos animales de DE y DM, vardenafilo ha demostrado su eficacia. En un estudio in-vitro¹¹¹ sobre células de músculo liso de los cuerpos cavernosos de un modelo de rata con DM inducida por estreptozotocina se utilizó resveratrol (un polifenol vegetal que activa la óxido nítrico sintetasa endotelial para facilitar una mínima concentración de NO) con y sin la adición de vardenafilo durante 4 a 8 semanas.

Se midieron las concentraciones intracelulares de GMPc y el ratio entre la presión intracavernosa y la tensión arterial media (PIC/PAM), así como el ratio entre músculo liso y colágeno.

Los niveles de GMPc aumentaron significativamente en los animales tratados con resveratrol demostrándose una actividad sinérgica de resveratrol y vardenafilo, mejorando los niveles de GMPc y una mejoría de los ratios PIC/TAM.

En estudios sobre pacientes diabéticos con DE y neuropatía diabética asociada¹¹² se comparó la eficacia del tratamiento con vardenafilo y tadalafilo sobre la función sexual.

La eficacia del estudio se midió valorando los cambios en la puntuación del International Index of Erectile Dysfunction (IIEF), el cuestionario *Sexual Encounter Profile Question 2* (SEP2) y 3 (SEP3) y la encuesta *Global Assessment Question* (GAQ).

En todos los pacientes, el IIEF aumentó de 12.6 ± 6.8 a 19.6 ± 9.0 ($p < 0.001$) puntos tras el tratamiento. El número de pacientes con respuestas positivas en el SEP2 también creció significativamente desde 27 (55.1%) a 38 (77.6%) y en el cuestionario SEP3 ascendió desde 7 (14.3%) a 30 (61.2%). El 63.3% de los pacientes evaluados manifestó un impacto satisfactorio del tratamiento en el cuestionario GAQ.

Sin embargo, no se pudo demostrar una diferencia significativa entre vardenafilo y tadalafilo.

Se ha estudiado la eficacia y seguridad del tratamiento de pacientes con DE y síndrome metabólico con vardenafilo en un ensayo clínico frente a placebo¹¹³.

Se realizó un tratamiento durante 12 semanas con vardenafilo o placebo. Se valoraron los resultados utilizando el IIEF y el SEP2 y SEP3.

Los resultados del cuestionario IIEF basal fueron bajos, revelando una DE moderada-severa (vardeafilo 12.0; placebo 12.7).

En el ensayo clínico, vardenafilo demostró una eficacia superior ($p < 0.0001$) a placebo en todos los ítems estudiados, con una tolerabilidad óptima.

Por otra parte, vardenafilo ha demostrado, en estudios sobre modelo animal de isquemia/reperfusión cardíaca¹¹⁴, un efecto antioxidante cardioprotector por medio de la apertura de canales mitocondriales K(ATP). Estos resultados prueban que los IPDE-5 tienen un efecto protector en la isquemia cardíaca sumados a los efectos previamente demostrados sobre la función sexual.

7. PROTEÓMICA

La proteómica deriva del término proteoma, que fue utilizado por vez primera en 1995 por Wilkins. Se trata del estudio de la traducción proteica que se expresa en el plasma y los tejidos, como consecuencia de una determinada secuenciación genética. Pero cabe destacar que diferentes factores postranscripcionales, interacciones con el medio y factores ambientales hacen que la genómica no tenga una relación lineal con la traducción proteica en un determinado momento. Por eso tenemos que huir de la correlación simplista del siglo pasado en el que el proteoma venía determinado por la mera traducción genómica.

Si bien la genómica nos permite entender diferentes aspectos biológicos, será la proteómica la responsable en último término de los principales mecanismos reguladores a nivel tisular para el funcionamiento y control celular.

El genoma humano se compone de aproximadamente 25000 genes. La información de los elementos postranscripcionales proporciona una información de suma relevancia. De hecho, será el proteoma y no el genoma, quien determine la función celular y por ende el fenotipo (figura 12).

El proteoma es un conjunto de proteínas dinámico que cambia de forma constante influido por diferentes agentes internos y externos, así como por su propia expresión¹¹⁵.

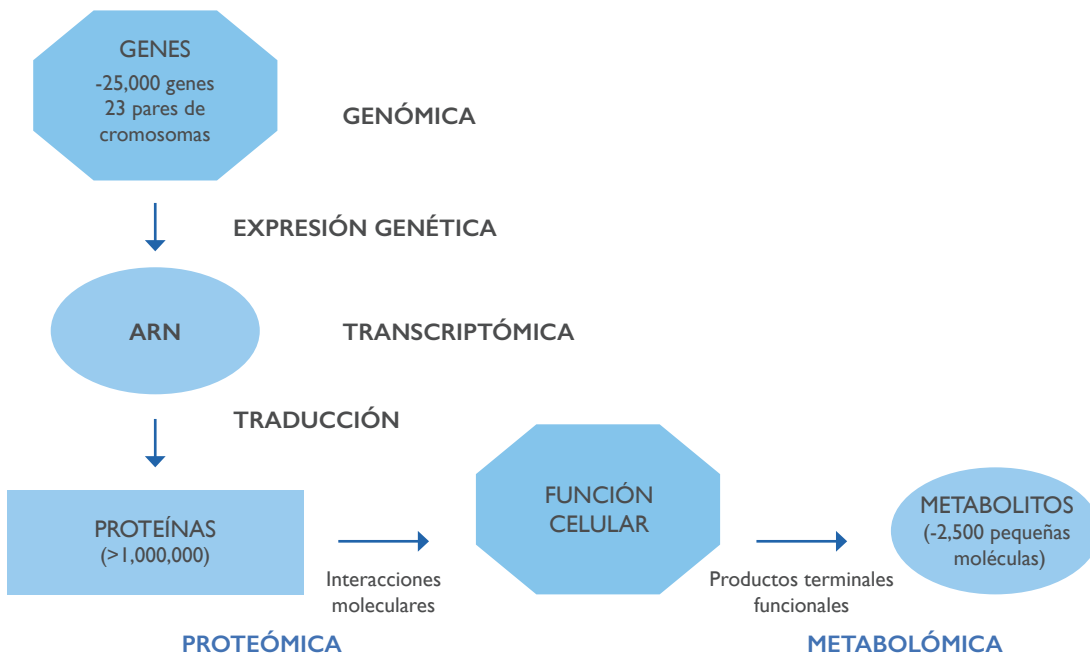


Figura 12.

Genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica.

Katz Jaffe MG, McReynolds S, Gardner DK, Schoolcraft WB. The role of proteomics in defining the human embryonic secretome. *Reprod Hum Mol* 2009; 15(5):271-277

La proteómica es una rica vía de obtención de información biológica dado que las proteínas están íntimamente implicadas en casi todas las actividades biológicas (figura 13) y presentan múltiples y diversas cualidades, que en conjunto favorecen el entendimiento y la caracterización de los distintos sistemas biológicos.

Para determinar la expresión proteica de diferentes genes, los primeros estudios se centraron en clusters de RNA mensajero (RNAm) y se determinó la expresión de patrones proteicos en diferentes estadios del ciclo celular^{116,117}. Para ello se tuvo que implementar un método para la determinación cuantitativa del mapa proteico generado, mediante electroforesis bidimensional sobre gel, de alta resolución.

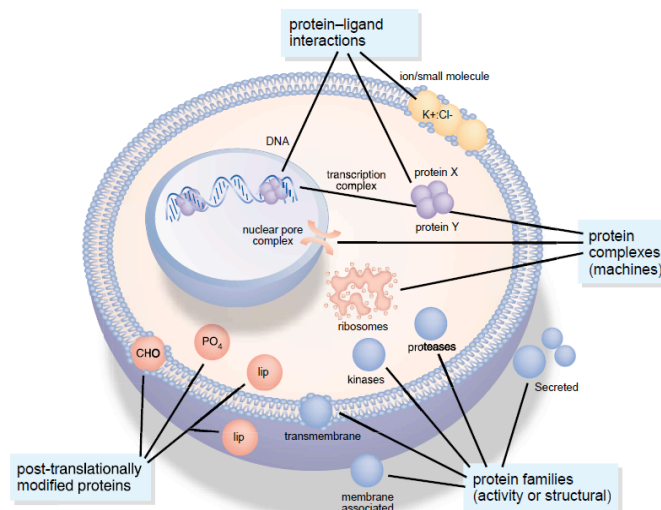


Figura 13.

Propiedades del proteoma a nivel celular.

Patterson SD, Aebersold RH. Proteomics: the first decade and beyond. *Nat Genet* 2003 Mar; 33 Suppl: 311-23

La electroforesis bidimensional sobre gel (figura 14), se trata de un método de separación de proteínas usando dos parámetros diferentes en ejes ortogonales. Por un lado, se separan las proteínas por su peso molecular relativo y en el eje contrapuesto se mide la masa, logrando la separación según su punto isoelectrico o carga. Todo esto sobre un gel con una matriz de poliacrilamida^{118,119}.

Las proteínas presentan grupos cargados de diferentes polaridades, por lo que se puede determinar un punto isoelectrico que corresponde al pH en el que una determinada molécula posee una carga neta cero y por consiguiente permanece inmóvil en un campo eléctrico.

Una vez que separamos las proteínas en sus ejes ortogonales según punto isoelectrico y peso molecular, es preciso realizar un revelado con diversas tinciones. Los mecanismos utilizados más habitualmente son la tinción con azul Coomassie, la tinción fluorexcente

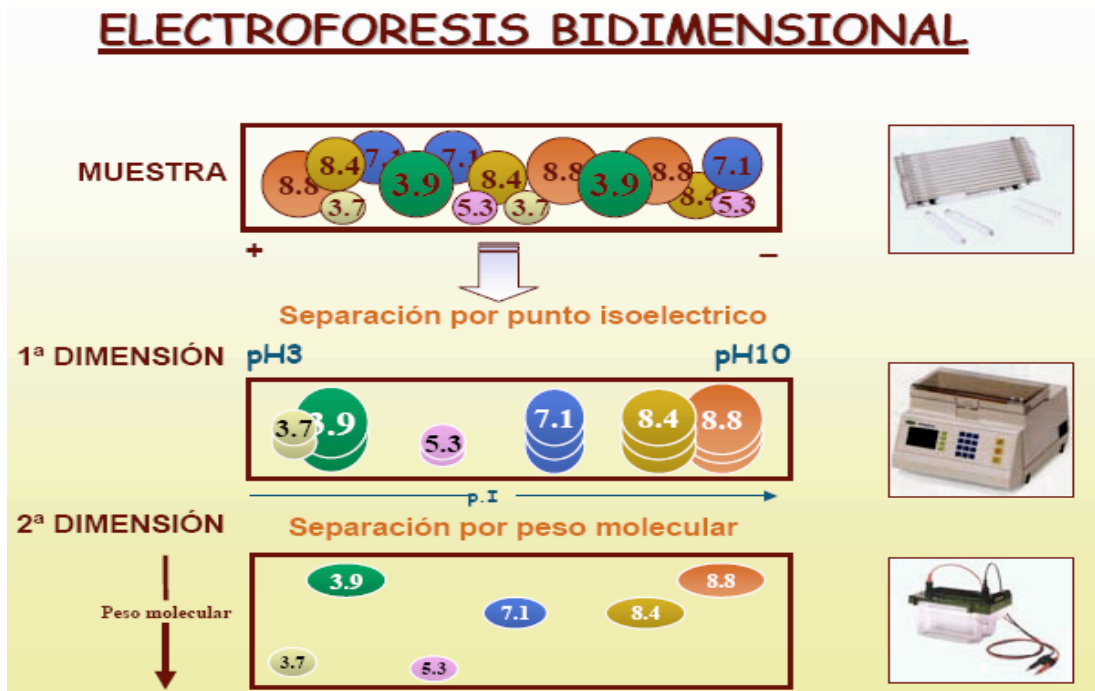


Figura 14.
Teoría de la Electroforesis bidimensional

Sypro Ruby o las tinciones a base de plata. Esta última es capaz de aumentar hasta 50 veces la sensibilidad en el revelado frente a la tinción azul (figura 15).

La espectrometría de masas (figura 16) nos ofrece información adicional a la obtenida mediante los métodos de electroforesis bidimensional. Esta técnica nos brinda información de la ultraestructura proteica como la masa peptídica y los aminoácidos que la componen. Los resultados los podemos comparar con bases de datos preexistentes.

Esta técnica nos permite reconocer los cambios postranduccionales de las proteínas.

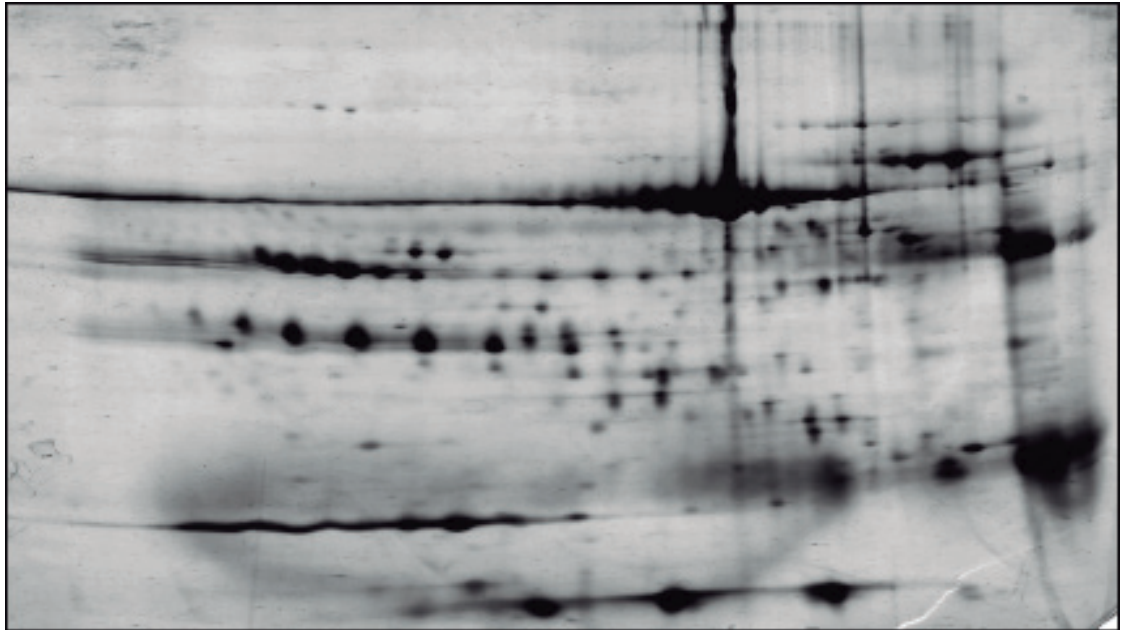


Figura 15.
Ejemplo de Electroforesis bidimensional

Una vez obtenida la proteína que queremos analizar, realizamos una fragmentación de la misma para obtener sus componentes peptídicos mediante proteólisis. Estos componentes se purifican previo a la lectura.

Uno de los sistemas más habituales de lectura es el MALDI (matrix-assisted laser desorption ionization). Este método data de 1988.

Las moléculas que vamos a analizar se colocan sobre una placa que será sometida a una radiación con un haz láser que ocasionará la formación de iones moleculares y en la desecación, la conformación de una serie de cristales.

La luz láser ocasiona la desorción e ionización del objeto de estudio por medio de protonación y desprotonación, generando iones monovalentes que serán acelerados hasta un analizador.

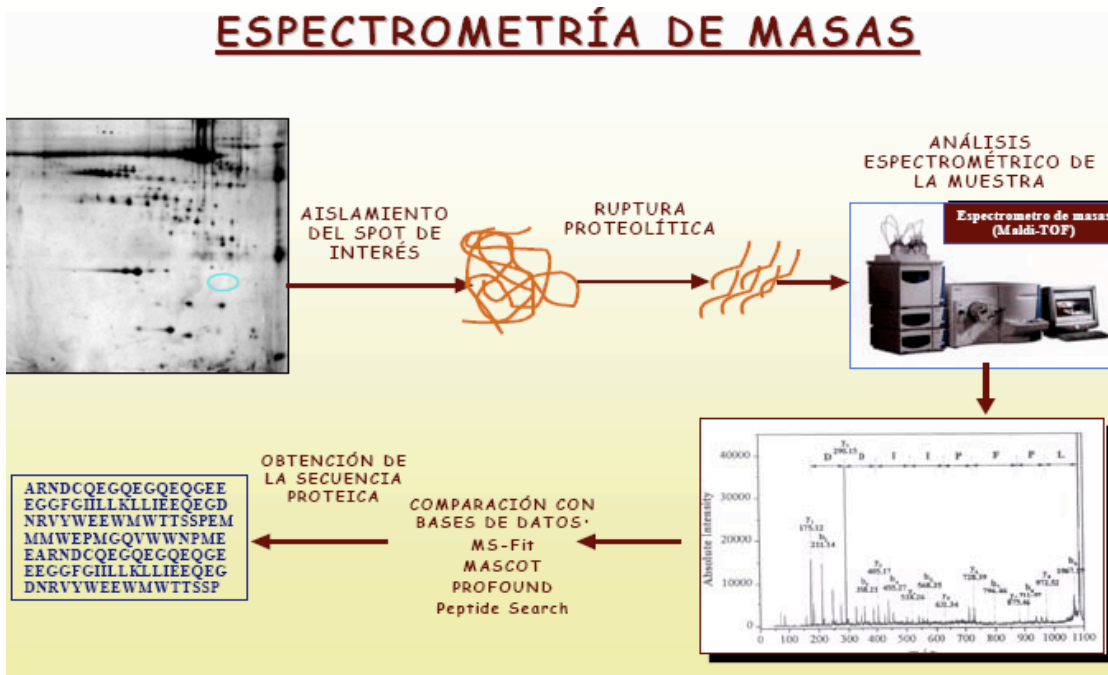


Figura 16.
Espectrometría de masas

Una vez obtenida la lectura espectrométrica, podemos comparar los resultados con las bases de datos y a continuación obtener la secuencia proteica.

Todos estos métodos nos ayudan a la determinación del proteoma objeto del estudio y nos dan idea de la complejidad del mapa proteico que es un sistema dinámico y sujeto a múltiples cambios por causa de diferentes procesos biológicos.

CAPÍTULO 2

HIPÓTESIS

La evidencia acumulada ha puesto de relieve el papel fundamental de las diferentes proteínas celulares como marcadores biológicos asociados al pronóstico de procesos fundamentales del medio interno como la inflamación, la activación plaquetaria o la coagulación entre otros^{120,121}.

Múltiples ensayos clínicos han demostrado el papel fundamental de la disfunción endotelial en la mayoría de los pacientes con DE. Los factores comunes de riesgo para la aterosclerosis son frecuentes en pacientes con DE. La prevalencia de la DE se incrementa en pacientes con enfermedades vasculares como la enfermedad arterial coronaria (EAC), la diabetes, la enfermedad cerebrovascular, la hipertensión, y la enfermedad arterial periférica.

Además, la DE y las enfermedades vasculares comparten un compromiso similar patogénico a través de la vía del óxido nítrico que condiciona un deterioro de la vasodilatación dependiente del endotelio en su primera fase y posteriormente en fase tardía, con alteraciones vasculares estructurales. En la DE estas alteraciones estructurales se localizan en los espacios lacunares del pene, la inhibición de la relajación de los vasos sanguíneos y del músculo liso¹²². Finalmente, el grado de afectación de la DE se ha relacionado con el número y gravedad de los factores de riesgo.

Diferentes ensayos clínicos y estudios de laboratorio, tanto en líneas celulares como en murinos, han puesto de manifiesto el importante papel del vardenafilo en el endotelio vascular a través de la modulación de los diversos factores relacionados con la aterosclerosis de los vasos¹²³.

Basados en las anteriores premisas, nuestra hipótesis de trabajo se fundamenta en el supuesto de que la administración de vardenafilo podría inducir un cambio en el mapa proteómico de los pacientes diabéticos tipo 2 que manifiestan DE. En caso de que esto sucediera, el análisis comparativo de las diferentes proteínas nos permitiría preestablecer un patrón proteómico diferenciado que nos proporcionaría información válida para definir el mecanismo molecular de acción del vardenafilo sobre el endotelio de los pacientes con diabetes tipo 2.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

Objetivo principal

El objetivo principal de este estudio es analizar las diferencias en los patrones proteómicos de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 y disfunción eréctil antes y después de la administración del inhibidor selectivo de la fosfodiesterasa 5, vardenafilo.

Objetivo secundario

Establecer del proteoma de los pacientes que presentan diabetes mellitus y DE, proteínas específicas que nos permitan diferenciar, en la práctica clínica, entre respondedores y no respondedores al tratamiento con vardenafilo.

Variables del estudio

La variable principal es el perfil proteico del proteoma de los sujetos con disfunción eréctil y diabetes mellitus. El perfil proteico se determinará mediante electroforesis bidimensional y análisis con el software de un programa de análisis (Gel 2-D obtenido mediante *PDQuestPM*) y en los casos de duda, se realizará una espectrometría de masas.

Proteínas a determinar

- alfa-1-antitripsina
- cadena gamma del fibrinógeno
- haptoglobina
- apolipoproteína A-I
- apolipoproteína A-IV
- proteína de unión a vitamina D
- alfa-fetoproteína
- beta tropomiosina
- desmoplaquina

Dichas proteínas se medirán en unidades arbitrarias de densitometría (UAD).

Se analizarán las diferencias en el perfil proteico entre ambos grupos de tratamiento, así como las diferencias dentro de cada grupo respecto a la determinación basal.

CAPÍTULO 4

MATERIAL Y MÉTODO

- I. PROTOCOLO DEL ESTUDIO
2. ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS
3. VERIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

I. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

I.1 Criterios de inclusión

- Hombres, sexualmente activos, con DM que presentan DE de más de seis meses de duración según la definición del NHI Consensus Conference 7-9 Diciembre 1992¹²⁴ (incapacidad para lograr o mantener una erección del pene el tiempo suficiente para una relación sexual satisfactoria).
- Pacientes con DE moderada o severa según la puntuación del el cuestionario *International Index of Erectile Function – Erectile Function Domain* (IIEF-ED) (Anexo 2)¹²⁵.
- Pacientes con DM controlada que no requieran un cambio en su tratamiento durante los 3 meses del estudio. La diabetes mellitus tipo 2 se definió de acuerdo con las guías clínicas de la *Task Force from the International Diabetes Federation*¹²⁶.
- Pacientes que tomen IPDE-5 para el tratamiento de su disfunción eréctil (Se permitió la inclusión de pacientes que habían tomado previamente IPDE-5 si la última administración fue como mínimo 7 días antes de la inclusión en el estudio).
- Paciente de edad comprendida entre los 18-64 años.

1.2 Criterios de exclusión

1.2.1 Patologías médicas actuales o previas.

- Cualquier proceso médico o psiquiátrico inestable o abuso de sustancias.
- Presencia de anomalías penianas anatómicas (p. ej. fibrosis peniana o enfermedad de la Peyronie) que pudieran deteriorar de forma significativa la función eréctil.
- Antecedente de prostatectomía quirúrgica (excluyendo la resección transuretral de próstata).
- Antecedentes de lesión medular.
- Retinitis pigmentosa.
- Angina de pecho inestable.
- Antecedentes de infarto de miocardio, accidente cerebral vascular agudo o arritmia con peligro para la vida en los seis meses previos.
- Taquiarritmia auricular (p. ej. debida a fibrilación o flutter auricular) con una frecuencia cardíaca superior a 100 latidos por minuto.
- Insuficiencia hepática de leve a severa (Child-Pugh A-C).
- Enfermedad hematológica crónica clínicamente significativa como anemia falciforme y leucemia que puede conllevar a priapismo.
- Trastorno hemorrágico.
- Enfermedad ulcerosa péptica activa.
- Hipotensión (presión arterial sistólica en reposo <90 mmHg) o hipertensión de reposo (presión arterial sistólica en reposo >170 mmHg o presión arterial diastólica en reposo >110 mmHg).

- Antecedente de neoplasia durante los últimos cinco años (excepto carcinoma de células escamosas o basocelular de la piel).
- Insuficiencia cardiaca Clase III y IV (NYHA).
- Insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <30 ml/min).
- Historia de test positivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (Antígeno HBs) o hepatitis C.
- Hipotensión ortostática sintomática en los 6 meses previos.

I.2.2 Medicación concomitante

- Pacientes que están tomando nitratos o liberadores del óxido nítrico.
- Pacientes que están tomando andrógenos (p.ej. testosterona) o antiandrógenos.
- Pacientes que están tomando los siguientes inhibidores del citocromo P 450 3A4: eritromicina, inhibidores potentes de la proteasa del VIH (ritonavir, indinavir) o los antimicóticos itraconazol y ketoconazol (se permiten en formulación tópica).
- Pacientes que han recibido cualquier fármaco en investigación (incluido placebo) en los 30 días anteriores a la visita 1 de selección.
- Uso de cualquier tratamiento para la función eréctil en los 7 días anteriores a la visita de inclusión o durante el estudio, incluyendo medicación oral, sistemas de vacío, dispositivos constrictores, inyecciones o supositorios uretrales.
- Pacientes en tratamiento con alfabloqueantes.

I.2.3 Valores anormales de laboratorio

- Pacientes con un valor de testosterona sérica total >25% inferior al límite inferior del rango de normalidad (de acuerdo a los valores de normalidad especificados por el laboratorio).

- Pacientes con una creatinina sérica > 2.5 mg/dL.
- Elevación de AST y ALT > 3 veces el límite superior de la normalidad.
- Pacientes diabéticos con Hemoglobina A1c > 12%.

I.2.4 Otros criterios de exclusión

- Pacientes que no desean dejar de utilizar sistemas de vacío, inyecciones intracavernosas, Viagra®, Cialis® u otro tratamiento de la disfunción eréctil durante el estudio.
- Hipersensibilidad conocida a cualquier componente del medicamento en investigación.
- Historia dentro de los últimos 6 meses de cefaleas migrañosas graves ocurriendo una vez al mes o más frecuentemente.
- Pacientes que no puedan dejar de tomar zumo de pomelo o productos que contengan zumo de pomelo durante el periodo de tratamiento del estudio.

I.3 Periodos del tratamiento

Los pacientes se han incluido de forma consecutiva y siguiendo el orden natural de visita al hospital, una vez comprobado que cumplen todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión y siempre que hayan aceptado participar en el mismo.

El estudio consta de 2 períodos:

- Un período basal o periodo de lavado de 2 semanas de duración en el que los pacientes no podrán tomar ningún tratamiento para la DE.
- Un período de tratamiento de 12 semanas de duración, durante el cual todos los pacientes tomarán un comprimido semanal de vardenafilo 20 mg o dos comprimidos semanales de vardenafilo 20mg (total 40mg).

I.4 Recogida de muestras

Las muestras de sangre se recogieron 1 o 2 días después de la toma de la última dosis de vardenafilo, mediante venopunción antecubital, desechando los primeros 3 a 4 ml de sangre iniciales.

Se recogieron 5 ml de sangre total en tubos de EDTA, centrifugándose a 2500 rpm, a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se recogió el plasma en tubos eppendorf. Se congelaron a -20°C .

Se recogieron 10 ml de sangre total. Se añadieron sobre 6 ml de Ficoll, cuya finalidad es generar un gradiente de densidad que permite separar las células mononucleadas. Se centrifugaron a 1750 rpm, a temperatura ambiente, durante 30 minutos y sin freno. Se recogieron el halo de células mononucleadas y se pasaron a tubos eppendorf donde tras centrifugar a 3500 rpm, a temperatura ambiente durante 10 minutos se realizó un lavado de las células con suero salino y se centrifugaron de nuevo en las mismas condiciones. Tras resuspensión de las células en suero salino se añadió una mezcla de antiproteásicos (leupeptina, pepstatina y PMSF) y se congelaron a -20°C .

2. ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Se cargaron 500µg de proteínas plasmáticas en tiras de gradiente de pH inmovilizado (IPG strips de 18cm, pH 4-7) y se realizó electroenfoque o isoelectroenfoque mediante el equipo Protean IEF cell system (Bio-Rad)^{®127} (figura 17).

Para lograr la separación en la segunda dimensión, las proteínas fueron incluidas en un gel SDS-PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) al 10% utilizando el sistema Protean II XL System (Bio-Rad)[®](figuras 18 y 19).

Los geles fueron fijados y se realizó una tinción de plata (para ello se usó el kit de tinción de plata desarrollado por GE Healthcare Bio-Sciences AB) y se escaneó una vez reali-

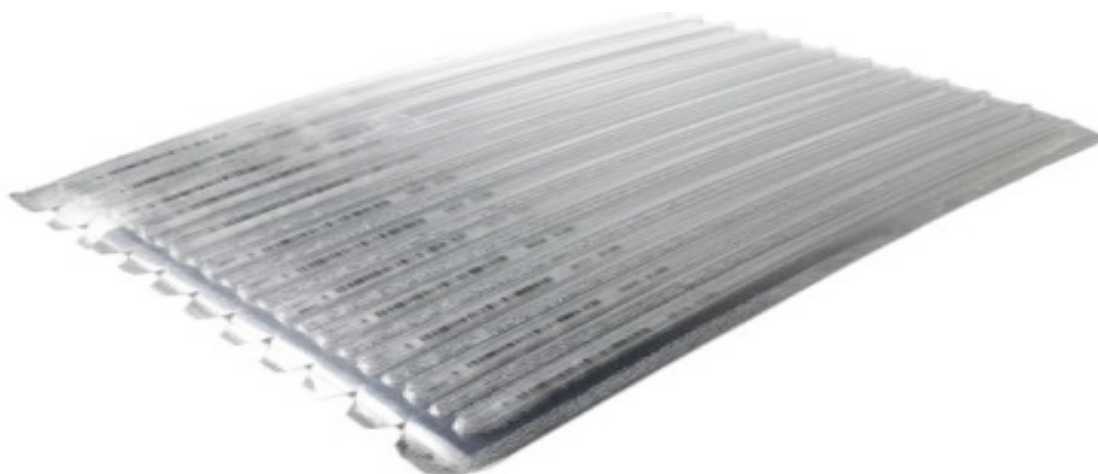


Figura 17.
IPG Strips de 18 cm

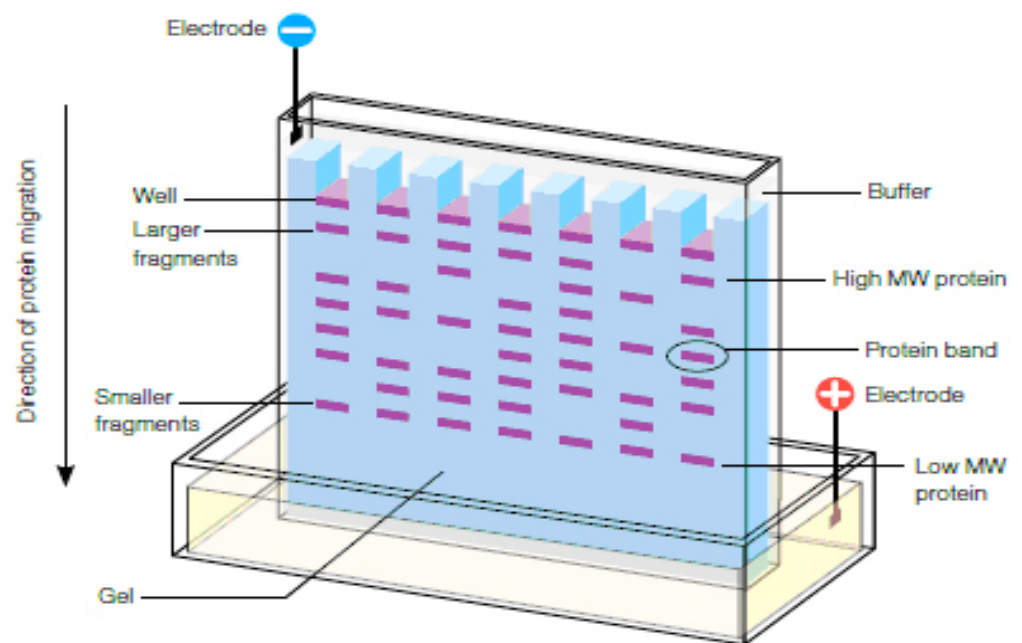


Figura 18.
Gel SDS-PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis)



Figura 19.
Equipo de electroforesis

zada la tinción mediante el escáner Umax Powerlook III, que utiliza el software Magic Scan v4.5^{127, 128}.

Se realizó un gel de electroforesis bidimensional para cada paciente estudiado. Los puntos del gel se analizaron densitométricamente y se identificaron usando la base de datos de proteómica www.expasy.ch.

Para la segunda parte del análisis, mediante la espectrometría de masas, los puntos del gel se escindieron y se realizó la proteólisis mediante un gradiente secuencial de tripsina (Promega). Posteriormente 1 µl de extracto purificado se combina con 1 µl de matriz de alfa-ciano-4hidroxicinámico (Sigma) y a continuación, se extrae nuevamente 1 µl de esta mezcla y se deposita en una placa Maldi^{127, 128}.

La espectrometría de masas se realizó en un analizador proteómico 4700 (Applied Biosystem) mediante un modo de reflector positivo.

Los péptidos que presentaban una señal de ruido superior a 20 se consideraron positivos en la identificación de proteínas.

Se utilizó la base de datos Mascot 1.9 (www.matrixscience.com) como algoritmo para identificar los péptidos identificados mediante espectrometría.

Las determinaciones realizadas mediante el estudio espectrométrico, se basaron en una evaluación tripartita que tiene en cuenta los resultados del peso molecular significativo (Mowse), la anotación del espectro y la migración observada frente a la esperable sobre el gel de electroforesis bidimensional. Cada punto se identificó tres veces diferentes.

3. VERIFICACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para verificar los resultados obtenidos mediante proteómica, se utilizó un modelo celular animal.

3.1 Células endoteliales de aorta bovina (CEAB)

Se obtuvieron cuatro aortas diferentes de un matadero de ganado en Colmenar Viejo (Madrid). Las células endoteliales de aorta se obtuvieron del lumen aórtico una vez incubadas con 0.5 mg/ml de collagenasa tipo II (Sigma) durante 20 minutos a 37°C¹²⁹.

Las CEAB fueron incubadas en tres grupos:

- a. En ausencia de α/β -tropomiosina (grupo control).
- b. En presencia de α/β -tropomiosina (T2400, Sigma-Aldrich) a dosis de 20 $\mu\text{g/ml}$.
- c. En presencia de α/β -tropomiosina (T2400, Sigma-Aldrich) a dosis de 20 $\mu\text{g/ml}$ junto con Vardenafilo (Bayer Pharmaceutical) a dosis de 10 $\mu\text{g/ml}$.

Las células bovinas se incubaron durante 24 horas a 37°C, en un medio de cultivo celular RPMI (Roswell Park Memorial Institute) con suero de ternera fetal al 1%, 5 mmol/l de L-glutamida, 200 U/ml de penicilina y 200 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina.

Cada uno de los estudios se realizó por triplicado en cada uno de los diferentes medios.

La concentración de tropomiosina se determinó de acuerdo con los resultados de estudios in vitro previos, que demostraron el efecto antiangiogénico a esta concentración determinada¹³⁰.

Por otro lado, la elección de la concentración de vardenafilo también se determinó en base a estudios previos in vitro en los que se utilizaron cultivos de células endoteliales¹³¹.

Tras el periodo de incubación, las células fueron obtenidas mediante análisis Western blot y se realizaron mediciones de GMPc. Así mismo, el medio de incubación se recuperó y tras un proceso de centrifugación (2500 rpm, 15 minutos a 4°C) fue almacenado a -80°C para la determinación total de nitrato/nitrito.

3.2 Western blot para análisis de fosfodiesterasa-5 y subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (GCs)

Las CEAB se homogeneizaron mediante la utilización de un buffer para la lisis celular (Cell Lysis Buffer, Sigma) y se solubilizaron en un buffer Laemmli que contiene 2-mercaptoetanol.

Las proteínas fueron separadas en gel SDS/poliacrilamida desnaturalizado al 15%. Se depositaron cantidades iguales de proteínas (40 μ g/línea estimados mediante el uso del reactivo ácido bicinconínico; Pierce).

En paralelo se colocaron muestras idénticas en un gel teñido con azul de Coomassie como control del depósito de proteínas.

Las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Immobilion-P, Millipore) con leche en polvo desnatada al 5% a 4°C durante toda la noche y posteriormente incu-

badas con anticuerpos monoclonales contra la fosfodiesterasa-5 (1:500; sc-32884; Santa Cruz Biotechnology) y contra la subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (1:1500; sc-20955, Santa Cruz) respectivamente.

Para valorar la expresión de proteínas, se incubaron membranas de nitrocelulosa con HRP (peroxidasa de rábano) conjugada con anticuerpos IgG anti-pollo o anti-conejo (dilución 1:2500) para la determinación de fosfodiesterasa-5 y guanilato ciclasa soluble respectivamente.

Las proteínas se determinaron mediante quimioluminiscencia ampliada (ECL[®], Amersham Biosciences). Los marcadores proteicos preteñidos (Sigma) se usaron para la determinación de masas moleculares.

3.3 Determinación de producción de nitrato/nitrito y GMPc en CEAB

La cantidad de nitrito/nitrato liberada por las células endoteliales bovinas se midió mediante determinaciones indirectas de óxido nítrico liberado por las CEAB, usando un kit de determinación clorimétrico (780001, Cayman Chemical Company).

La sensibilidad del análisis fue de 2.5 $\mu\text{mol/l}$. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 2.7 y 3.4% respectivamente.

El contenido de GMPc de las células endoteliales bovinas se detectó mediante un kit comercial (RPN226, Amersham, GE Healthcare) tras la acetilación de las muestras de CEAB.

La sensibilidad del análisis de GMPc fue de 2 fmol/l. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron menores de 11.4% y menores de 12.7% respectivamente.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como media \pm error estándar de la media.

Para determinar la significación estadística, se utilizó el test de Wilcoxon. Mediante el uso del coeficiente de correlación de Spearman (Rho), se determinó la asociación entre el nivel de expresión de biomarcadores plasmáticos y los valores del cuestionario IIEF-EF.

Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA
2. PUNTUACIÓN DEL CUESTIONARIO IIEF
3. RESULTADOS DEL PROTEOMA
4. ESPECTROMETRÍA DE MASAS
5. RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS CON EL RESULTADO DEL IIEF
6. RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS EN EL CUESTIONARIO IIEF Y LA EXPRESIÓN DE LA BETA TROPOMIOSINA EN FUNCIÓN DE LA DOSIS ADMINISTRADA DE VARDENAFILO
7. INFLUENCIA DEL SÍNDROME METABÓLICO EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON VARDENAFILO
8. LIBERACIÓN DE NITRATO/NITRITO, EXPRESIÓN DE FOSFODIESTERASA 5 Y SUBUNIDAD $\beta 1$ DE LA GUANILATO CICLASA SOLUBLE (sGC) Y CONTENIDO DE GMP_c EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES DE AORTA BOVINA

I. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA

I.1 Variables demográficas

En el presente trabajo se incluyen un total de 17 pacientes, todos ellos mayores de edad, que cumplen todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión.

I.1.1 Edad

La edad media de la muestra es de 56.94 años con una desviación típica de 2.32 años (rango 29-70). (Tabla 1)

Tabla 1. Características demográficas y clínico-patológicas de la muestra

	PACIENTES CON DE Y DM (n=17)
Edad (años)	56,94±2,32
IMC (kg/m²)	29,67±1.26
Niveles de colesterol total (mg/dl)	150.73±7.43
Factores de riesgo (%)	
Diabetes Mellitus	17/17
Síndrome metabólico	7/17
Cardiopatía	12/17
Hipertensión arterial	9/17
Dislipemia	8/17

I.1.2 Sexo

Todos los pacientes incluidos fueron de sexo masculino.

I.2 Características clínico-patológicas

Se determinaron y consignaron datos de la historia clínica de los pacientes tales como el Índice de Masa Corporal (IMC), niveles de colesterol medidos en mg/dl y la presencia de otros factores de riesgo aparte de la propia diabetes tipo 2, como el síndrome metabólico, presencia de alguna clase de cardiopatía, hipertensión arterial o dislipemia (Tabla 1).

I.3 Medicación habitual

Se registraron también los datos sobre la medicación habitual de los pacientes a estudio. En este apartado destacamos el uso de fármacos hipoglucemiantes, hipolipemiantes, betabloqueantes y nitratos (Tabla 2).

Como se aprecia, ninguno de los pacientes tomaba nitratos, tal y como se describió en los criterios de exclusión. Cabe destacar que tampoco hubo pacientes en tratamiento con betabloqueantes en la muestra.

Tabla 2.

Tratamiento farmacológico y grupos de tratamiento

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	
Hipoglucemiantes	17/17
Hipolipemiantes	8/17
Betabloqueantes	0/17
Nitratos	0/17
Vardenafilo 20mg/semana	8/17
Vardenafilo 40mg/semana	9/17

I.4 Grupos de tratamiento

Se realizaron dos grupos de tratamiento y los pacientes se asignaron a cada uno de los grupos de manera consecutiva conforme se fueron incluyendo en el estudio (Tabla 2).

Grupo 1: Pacientes que reciben tratamiento con Vardenafilo a dosis de 20mg semanales.

Grupo 2: Pacientes que reciben tratamiento con Vardenafilo a dosis de 40mg semanales.

I.5 Parámetros hemodinámicos y hormonales

Se incluyen datos sobre las constantes vitales antes y después del tratamiento, tales como la tensión arterial sistólica y diastólica, así como la frecuencia cardíaca.

Desde el punto de vista de control glucémico se registraron los datos de hemoglobina glicosilada (HbA1c).

En cuanto a los niveles hormonales, también se compararon los niveles de testosterona con anterioridad y una vez concluidos el tratamiento con vardenafilo (Tabla 3).

Tabla 3.
Parámetros hemodinámicos y hormonales

PARÁMETROS HEMODINÁMICOS Y HORMONALES		
	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO
Tensión arterial sistólica (mmHg)	127,65±2,82	127,86±3,46
Tensión arterial diastólica (mmHg)	74,12±1,50	72,00±2,41
Frecuencia cardíaca (lpm)	70,75±1,56	68,71±1,97
HbA1c (%)	7,43±1,21	7,32±1,17
Testoterona (pg/ml)	72,76±4,58	78,30±4,16

2. PUNTUACIÓN DEL CUESTIONARIO IIEF

Al total de los pacientes recogidos en el estudio se les recoge el resultado de la puntuación del cuestionario IIEF al inicio y tras la conclusión del estudio.

La media del cuestionario en los pacientes del grupo de tratamiento con 20mg semanales de vardenafilo fue de 9.00 ± 1.09 mientras que tras el tratamiento la media asciende a 22.25 ± 1.76 , siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Por otro lado, en aquellos pacientes que recibieron tratamiento con 40mg semanales de vardenafilo fue de 8.67 ± 1.10 y una vez concluido el estudio la media asciende a 15.11 ± 3.30 , siendo igualmente esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Tabla 4).

Tabla 4.
Impacto del tratamiento con Vardenafilo en los cambios de puntuación del cuestionario IIEF.

Los resultados se muestran como media \pm error estándar de la media.

* $p < 0.05$ con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

	IIEF ANTES DE VARDENAFILO	IIEF DESPUÉS DE VARDENAFILO
20 mg/semana (n=8)	9,00 \pm 1,09	22,25 \pm 1,76*
40 mg/semana (n=9)	8,67 \pm 1,10	15,11 \pm 3,30*

3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL PROTEOMA

El proteoma se analizó mediante una electroforesis bidimensional (Figura 20) y posteriormente utilizando la tecnología de espectrometría de masas.

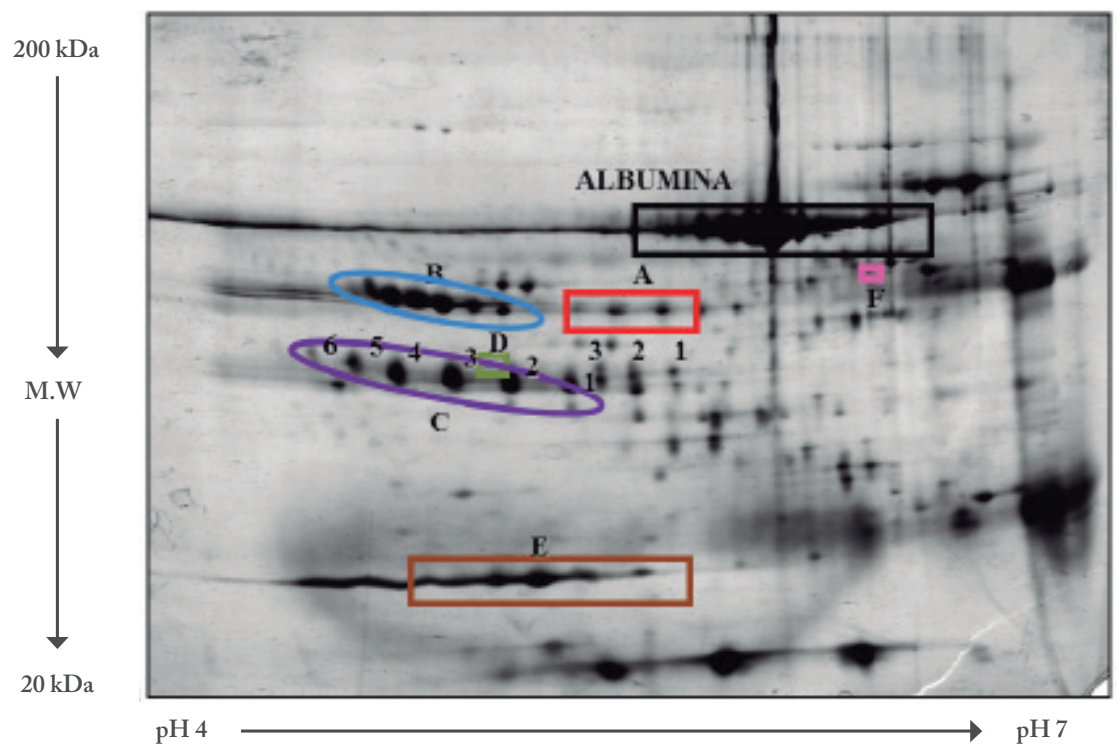


Figura 20. Ejemplo de electroforesis bidimensional. El área A: cadena gamma del fibrinógeno; área B Alfa I antitripsina; área C Haptoglobina; área D Apolipoproteína AIV; área E Apolipoproteína AI; área F Fragmento D del fibrinógeno

3.1 Alfafetoproteína

Los niveles de la alfafetoproteína presentan un resultado de 0.44 ± 0.16 medido en unidades arbitrarias, mientras que tras el tratamiento de 12 semanas con IPDE-5 el valor plasmático de la proteína es de 0.38 ± 0.17 (Tabla 5), siendo la diferencia resultante no significativa con un valor de la $p=0.508$ (Figura 21).

Tabla 5.

Resultados de los niveles de Alfafetoproteína antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Alfafetoproteína	$0,44 \pm 0,16$	$0,38 \pm 0,17$	0,508

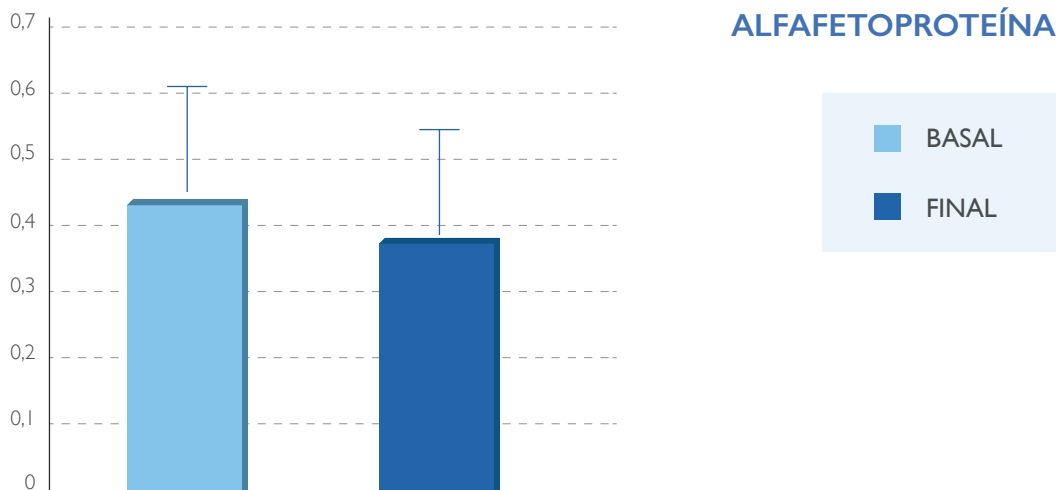


Figura 21.

Resultados de los niveles de Alfafetoproteína antes y después del tratamiento

3.2 Apolipoproteína AI

Se midieron los niveles de apolipoproteína AI en sus diferentes isoformas (APO AI1, APO AI2, APO AI3, APO AI4 y APO AI5). Los resultados del proteoma demuestran

que no hubo cambios significativos en la expresión de esta proteína tras el tratamiento con Vardenafilo (Tabla 6) (Figura 22).

Tabla 6.
Resultados de los niveles de Apolipoproteína AI antes y después del tratamiento

* p<0.05 con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Apolipoproteína AI			
Isotipo 1	0,23±0,12	0,16±0,09	0,593
Isotipo 2	0,59±0,32	0,28±0,17	0,273
Isotipo 3	0,88±0,47	1,26±0,84	1,000
Isotipo 4	0,30±0,15	0,56±0,37	1,000
Isotipo 5	Indetectable	0,39±0,30*	0,049

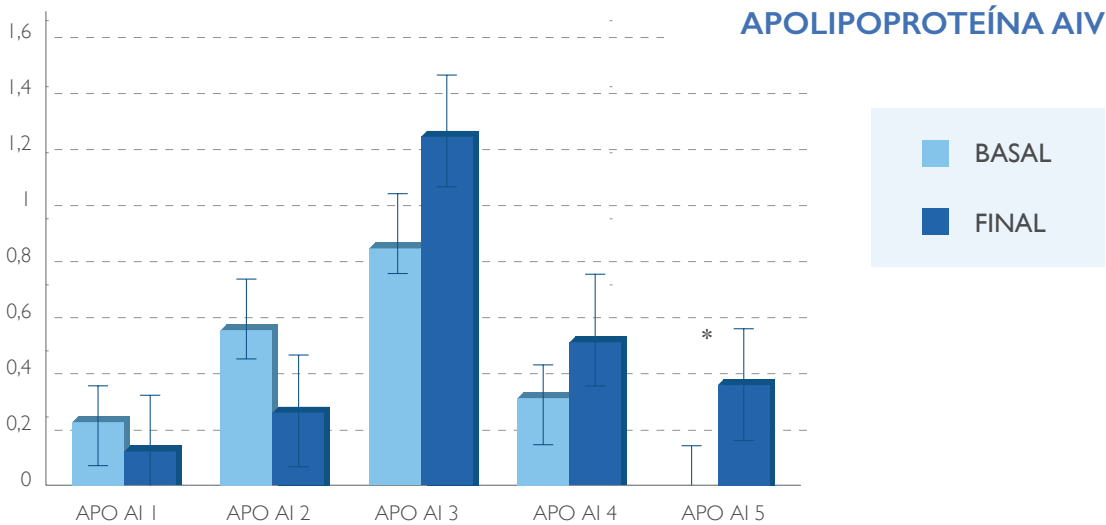


Figura 22.
Resultados de los niveles de Apolipoproteína AI antes y después del tratamiento.
* p<0.05 con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

Se demostró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles del isotipo 5 de apolipoproteína tras el tratamiento con Vardenafilo durante 12 semanas, siendo el valor de la $p=0.049$.

3.3 Apolipoproteína AIV

También se registraron los niveles de apolipoproteína AIV (Tabla 7) previos al tratamiento y tras el mismo. Al inicio del estudio la media de esta proteína en plasma fue de 0.68 ± 0.22 medido en unidades arbitrarias y al final de las 12 semanas de tratamiento fue de 0.42 ± 0.18 , siendo el valor de la $p=0.203$, sin haber demostrado una diferencia significativa (Figura 23).

Tabla 7.

Resultados de los niveles de Apolipoproteína AIV antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Apolipoproteína AIV	$0,68 \pm 0,22$	$0,42 \pm 0,18$	0,203

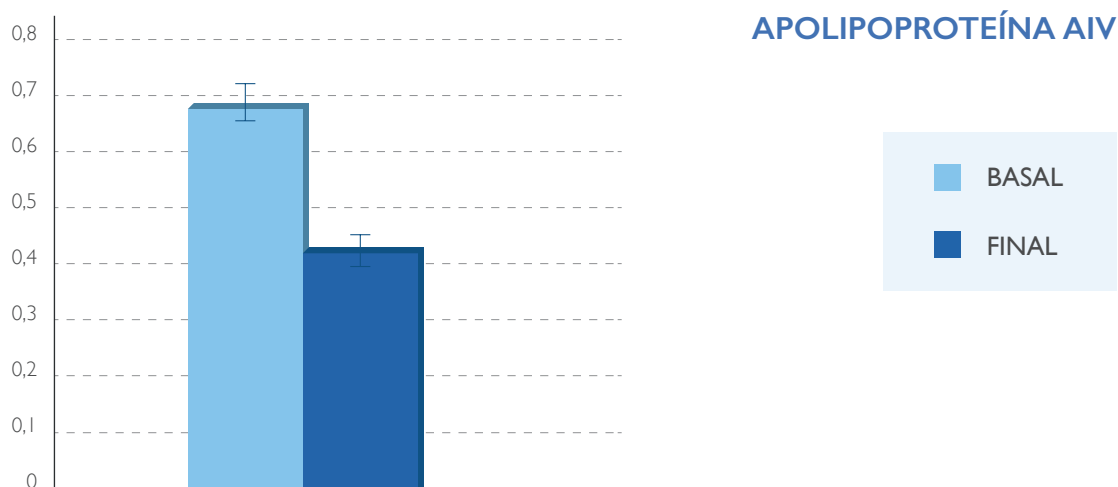


Figura 23.
Resultados de los niveles de Apolipoproteína AIV antes y después del tratamiento

3.4 Beta tropomiosina

Los niveles plasmáticos de la proteína beta tropomiosina se analizaron antes y después del tratamiento (Tabla 8).

Los niveles antes del tratamiento con Vardenafilo fueron de 1.08 ± 0.16 en unidades arbitrarias mientras que tras el tratamiento los resultados fueron de 0.41 ± 0.14 . El valor de la p fue 0.005, siendo el cambio estadísticamente significativo (Figura 24).

Tabla 8.
Resultados de los niveles de Beta tropomiosina antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Beta tropomiosina	$1,08 \pm 0,16$	$0,41 \pm 0,14^*$	0,005

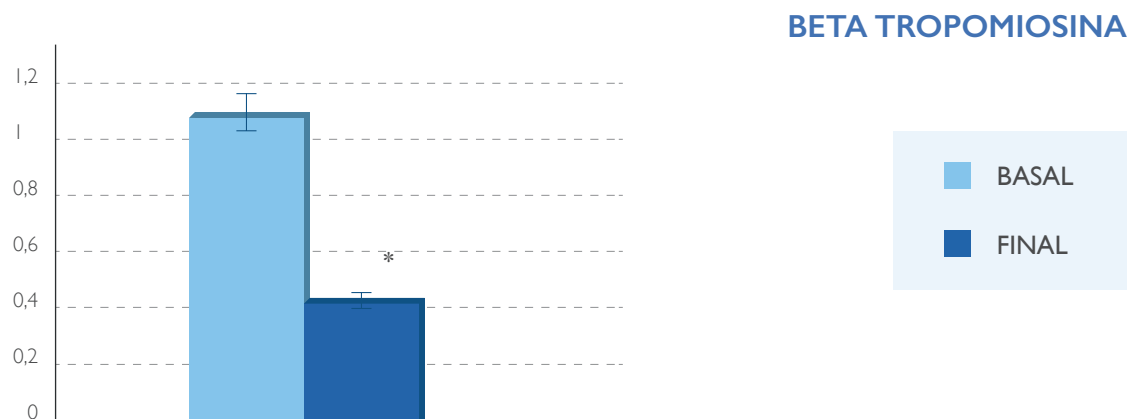


Figura 24.
Resultados de los niveles de Beta tropomiosina antes y después del tratamiento.
* $p < 0.05$ con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

Si comparamos los niveles de beta tropomiosina en los subgrupos de tratamiento que reciben 20 mg semanales y 40 mg semanales de Vardenafilo, en ambos casos la diferencia es estadísticamente significativa tras las 12 semanas (Tabla 9).

Tabla 9.
Impacto del tratamiento con Vardenafilo (20mg vs 40mg semanales) en los niveles de tropomiosina.

Los resultados se muestran como media \pm error estándar de la media.
* $p < 0.05$ con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

	β -TROPOMIOSINA ANTES DE VARDENAFILO	β -TROPOMIOSINA DESPUÉS DE VARDENAFILO
20 mg/semana (n=8)	1,15 \pm 0,26	0,50 \pm 0,27*
40 mg/semana (n=9)	1,03 \pm 0,23	0,34 \pm 0,13*

En los pacientes tratados con 20 mg semanales de Vardenafilo, los niveles previos al tratamiento fueron de 1.15 \pm 0.26 mientras que tras el periodo del estudio fueron de 0.50 \pm 0.27, siendo el valor de la $p < 0.05$. Del mismo modo, en los pacientes que reciben el tratamiento de 40mg semanales de Vardenafilo, los niveles de beta tropomiosina fueron de 1.03 \pm 0.23 y tras el tratamiento la cifra desciende hasta 0.34 \pm 0.13. En este caso también la diferencia fue estadísticamente significativa, con un valor de $p < 0.05$.

3.5 Desmoplaquina

Los niveles de la desmoplaquina presentan un resultado de 0.64 \pm 0.19 medido en unidades arbitrarias, mientras que tras el tratamiento de 12 semanas con IPDE-5 el valor plasmático de la proteína es de 0.86 \pm 0.23 (Tabla 10), siendo la diferencia resultante no significativa con un valor de la $p = 0.552$ (Figura 25).

Tabla 10.
Resultados de los niveles de Desmoplaquina antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Desmoplaquina	0,64±0,19	0,86±0,23	0,552

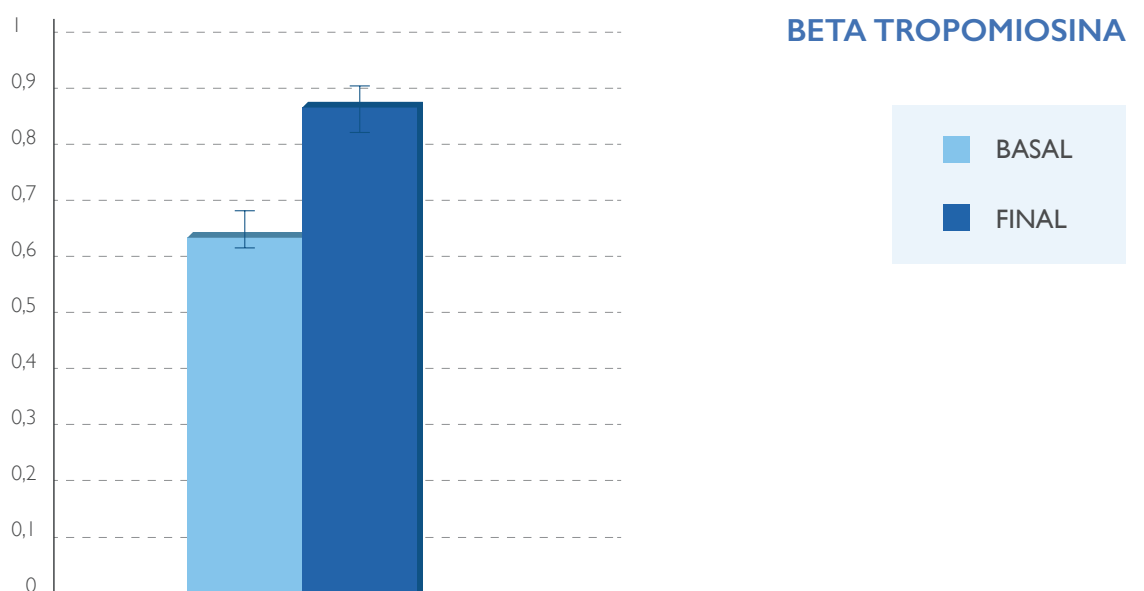


Figura 25.
Resultados de los niveles de Desmoplaquina antes y después del tratamiento

3.6 Cadena gamma del fibrinógeno

Se midieron también los niveles de la cadena gamma del fibrinógeno (CGF) en sus diferentes isoformas (CGF 1, CGF 2, CGF 3). Los resultados del proteoma demuestran que no hubo cambios significativos en la expresión de esta proteína tras el tratamiento con Vardenafilo (Tabla 11) (Figura 26).

Tabla 11.
Resultados de los niveles de la cadena gamma del fibrinógeno antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Cadena gamma del fibrinógeno			
Isotipo 1	5,91±1,57	4,59±0,98	0,917
Isotipo 2	4,22±1,10	2,87±0,73	0,594
Isotipo 3	2,43±0,83	1,53±0,53	0,875

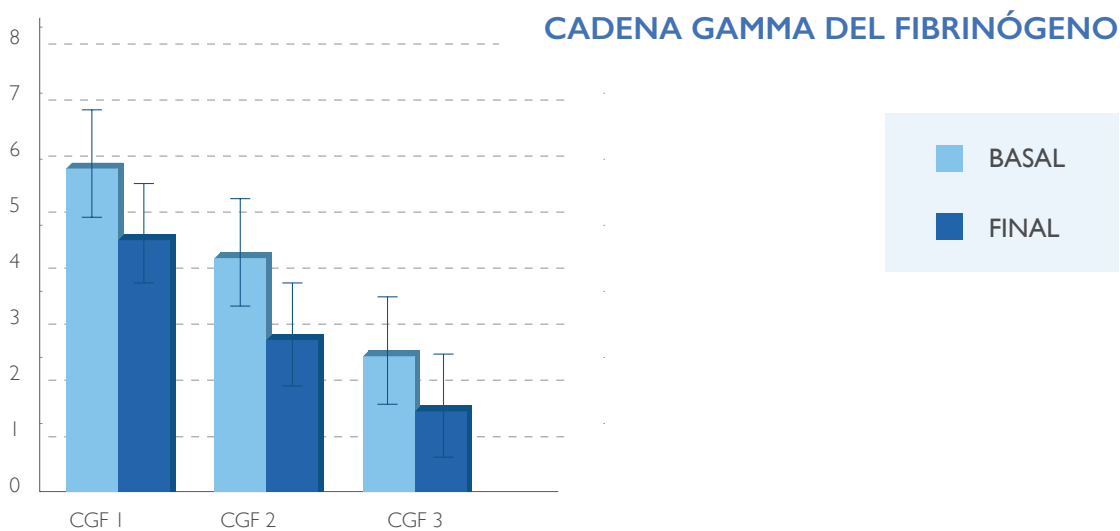


Figura 26.
Resultados de los niveles de la cadena gamma del fibrinógeno antes y después del tratamiento

3.7 Alfa I antitripsina

Los niveles plasmáticos de la proteína alfa 1 antitripsina (AAT) se registraron en sus diferentes isoformas (AAT 1, AAT 2, AAT 3, AAT 4, AAT 5, AAT 6 y AAT 7). Los resultados del proteoma demuestran que hubo cambios significativos en la expresión de las isoformas A1A 4 y A1A 6, tras el tratamiento con Vardenafilo, siendo el valor de la

p=0.013 y p=0.037 respectivamente (Tabla 12) (Figura 27). En el resto de isoformas no se pudieron demostrar diferencias.

Tabla 12.

Resultados de los niveles de Alfa I antitripsina antes y después del tratamiento

* p<0.05 con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Alfa 1 antitrisina			
AAT1	0,51±0,24	0,11±0,07	0,249
AAT2	1,67±0,47	1,05±0,16	0,657
AAT3	1,87±0,49	1,50±0,26	0,583
AAT4	2,90±0,60	1,86±0,41*	0,013
AAT5	2,25±0,68	2,05±0,34	0,657
AAT6	3,42±1,06	1,73±0,37*	0,037
AAT7	1,85±0,70	1,45±0,35	0,374

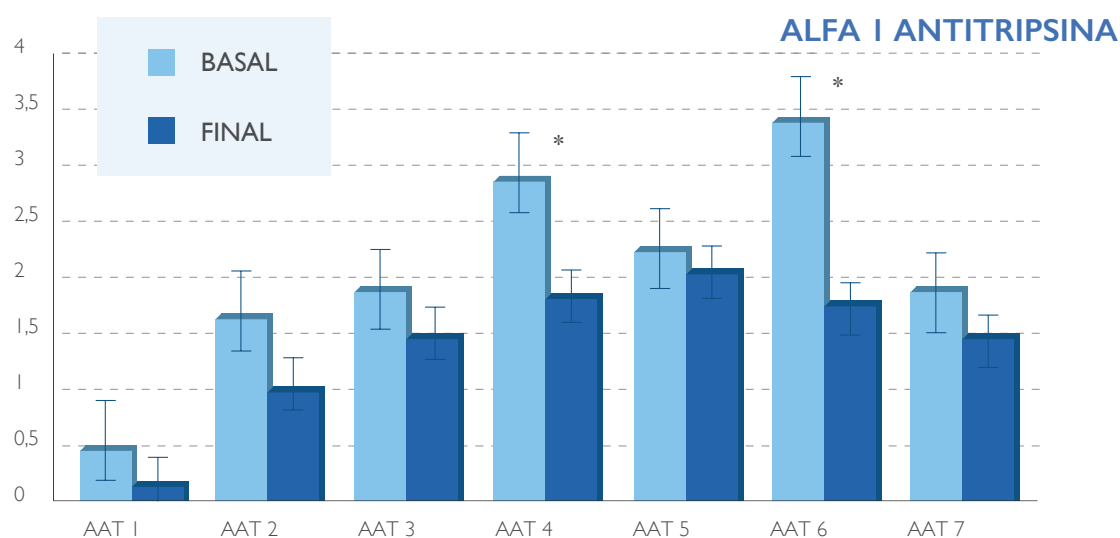


Figura 27.

Resultados de los niveles de Alfa I antitripsina antes y después del tratamiento.

* p<0.05 con respecto a los datos previos al inicio del tratamiento

3.8 Proteína fijadora de vitamina D

Analizamos el cambio en los niveles plasmáticos de la proteína fijadora de vitamina D (PFD) en sus tres diferentes isoformas (PFD 1,PFD 2, PFD 3).

En ninguno de los casos hubo modificaciones del proteoma que alcanzasen el rango de significación estadística tras el tratamiento recibido (Tabla 13) (Figura 28).

Tabla 13.
Resultados de los niveles de proteína fijadora de vitamina D antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Proteína fijadora de vitamina D			
PFD 1	0,27±0,10	0,28±0,07	0,861
PFD 2	0,45±0,15	0,43±0,11	0,807
PFD 3	0,52±0,25	0,23±0,08	0,533

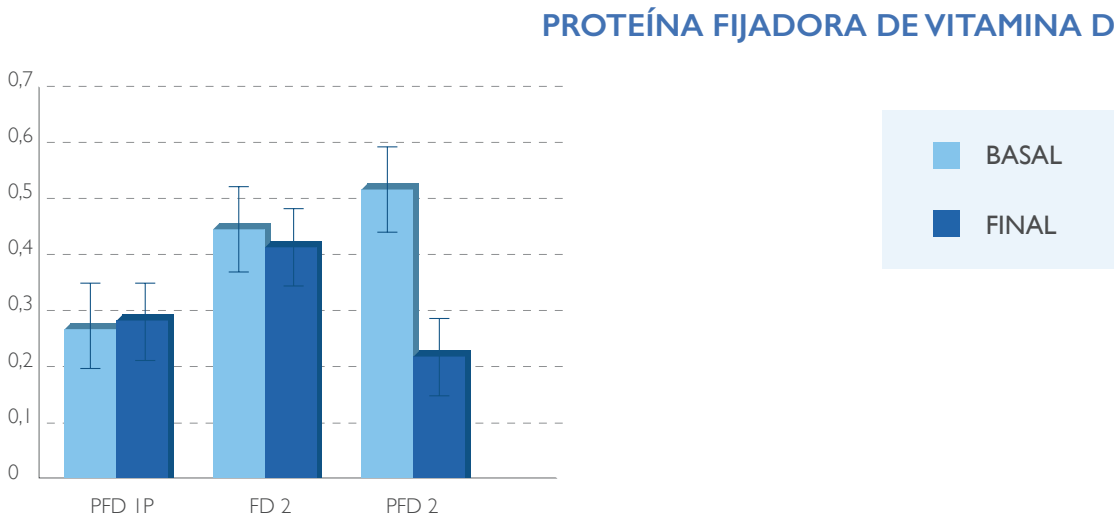


Figura 28.
Resultados de los niveles de Proteína fijadora de vitamina D antes y después del tratamiento

3.9 Haptoglobina

Los niveles plasmáticos de haptoglobina se analizaron antes y después del tratamiento (Tabla 14).

Estudiamos las diferentes isoformas de haptoglobina (HPG 1, HPG 2, HPG 3, HPG 4, HPG 5 y HPG 6). Tras la administración de vardenafilo, no se alcanzaron diferencias significativas en el cambio del proteoma en ninguna de las isoformas (Figura 29).

Tabla 14.
Resultados de los niveles de Haptoglobina antes y después del tratamiento

PROTEÍNA	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	VALOR P
Haptoglobina			
HPG 1	5,09±1,73	2,66±0,58	0,878
HPG 2	5,43±1,07	3,57±0,75	0,328
HPG 3	4,68±1,46	3,08±0,79	0,799
HPG 4	2,74±0,92	1,82±0,39	0,657
HPG 5	1,13±0,34	1,20±0,32	0,657
HPG 6	0,92±0,38	0,52±0,13	0,878

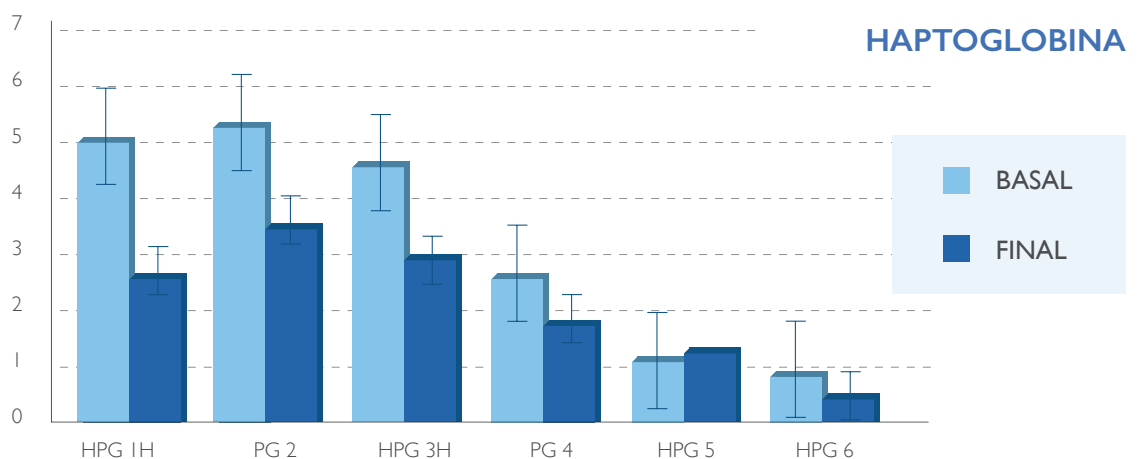


Figura 29.
Resultados de los niveles de Haptoglobina antes y después del tratamiento

4. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Una vez determinadas las proteínas que presentan cambios significativos, se procede al estudio mediante espectrometría de masas de estas. Los resultados del mismo se comprueban con la base de datos Mascot 1.9, tal y como se describió en el apartado de material y métodos.

Los datos referentes al estudio mediante espectrometría de masas de estas proteínas, se reflejan en la Tabla 15.

Tabla 15.
Proteínas identificadas mediante espectrometría de masas

PROTEÍNA	Nº DE REGISTRO BASE DE DATO	MASA TEÓRICA (kDa/pl)	PÉPTIDOS COINCIDENTES	MÉTODO IDENTIFICACIÓN	SCORE (%)	SECUENCIA CUBIERTA
Apolipoproteína AI	P02647	30,76/5,56	DSGRDYVSQFEGSALGK / LLDNWDSVTSTFSK / VQPYLDDFQKWQEEMELYRQKV / EPLRAELQEGAR / LSPLGEEMR / AHVDALRTHLAPYSDELRL / LEALKENGGARLAEYHAKATHLS TLSEKAKPALEDLR	MS	100	48
Beta tropomiosina	S00922	32,95/1,66	EAQEKLEQAEKK / AADESERGMKVNIENRAMK / MELQEMQLKEAK / CGDLEELKIVTNNLK / YEEEIK AEFAERSVAK	MS+MS/MS	79	26
Alfa 1 antitripsina Isotipo 4	P01099	46,88/5,37	ITPNLAEEFAFSLYR / DTEEDFHVDQVTTVK / FLENEDRRSASLHLPKLSITGTYDL KSVLGQLGUTKVFNSGADLSGVT EEAPLK / SPLFMGKVVNPTQK	MS	100	23
Alfa 1 antitripsina Isotipo 6	P01099	46,88/5,37	ITPNLAEEFAFSLYR / VPMMK / LSITGTYDLKSVLGQLGITKVFNSG ADLSVGTEEAPLK / SPLFMGK	MS	67	15

5. RELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS CON EL RESULTADO DEL IIEF

Adicionalmente se analizó si las proteínas plasmáticas cuya expresión sufrió cambios significativos tras la administración del IPDE-5 vardenafilo, se asociaban con los valores del cuestionario IIEF.

Para este propósito se realizó un análisis de correlación de Spearman, incluyendo todos los valores antes y después de la administración del fármaco. El análisis de correlación de Spearman reveló que los niveles plasmáticos de beta tropomiosina se asociaban inversamente con los valores del cuestionario IIEF (Tabla 16).

Tabla 16.
La correlación Rho-Spearman entre la puntuación de IIEF y las proteínas plasmáticas que mostraron diferencias significativas antes y después de la administración de vardenafilo

PROTEÍNA	IIEF	
	Coefficiente rho	Valor p
Apo AI Isotipo 5	0,259	0,167
β-Tropomiosina	-0,473	0,001*
AAT Isotipo 4	-0,358	0,061
AAT Isotipo 6	-0,126	0,523

El gráfico de puntos (Figura 30) demuestra de manera más representativa la relación inversa entre los niveles plasmáticos de beta tropomiosina y los valores del cuestionario IIEF.

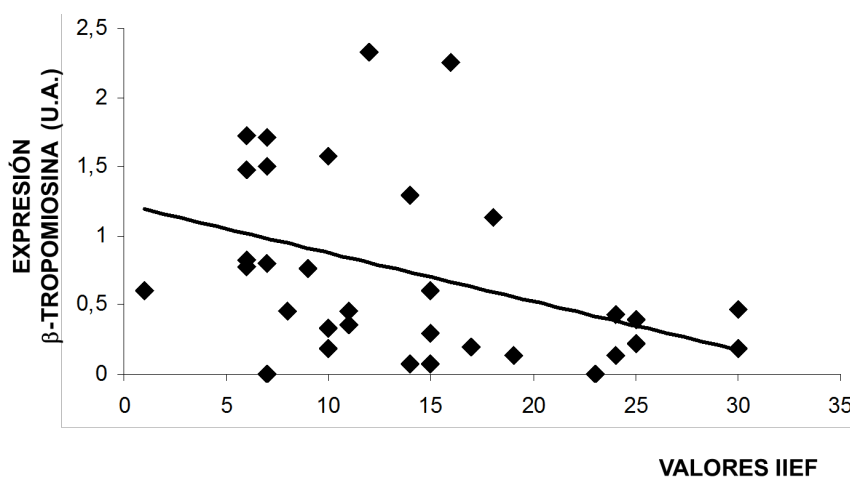


Figura 30.

Gráfico de puntos que demuestra la correlación inversa entre los niveles plasmáticos de beta tropomiosina y los valores del cuestionario IIEF

No se demostró la asociación entre el isotipo 5 de Apolipoproteína AI y los isotipos 4 y 6 de Alfa 1 antitripsina con el resultado obtenido en el cuestionario IIEF (Tabla 16).

6. RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS EN EL CUESTIONARIO IIEF Y LA EXPRESIÓN DE β -TROPOMIOSINA EN FUNCIÓN DE LA DOSIS ADMINISTRADA DE VARDENAFILO

Se analizó adicionalmente si los cambios observados tanto en el IIEF-ED como en la β -tropomiosina plasmática podían verse afectados por la toma de diferentes dosis de vardenafilo.

El análisis estadístico no mostró diferencias en la mejoría del resultado del cuestionario IIEF y en la β -tropomiosina plasmática en pacientes que habían recibido 20mg semanales de vardenafilo frente a los que recibieron 40mg (Tabla 17).

Tabla 17.

Impacto de la dosis de vardenafilo sobre los cambios en el índice internacional de función eréctil I (IIEF) y la expresión plasmática de β -tropomiosina

		20 mg/semana (n=8)	20 mg/semana (n=9)
IIEF	Antes de Vardenafilo	9,00 \pm 1,09	8,67 \pm 1,10
	Después de Vardenafilo	22,25 \pm 1,76*	15,11 \pm 3,30*
β -Tropomiosina	Antes de Vardenafilo	1,15 \pm 0,26	1,03 \pm 0,23
	Después de Vardenafilo	0,50 \pm 0,27*	0,34 \pm 0,13*

7. INFLUENCIA DEL SÍNDROME METABÓLICO EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON VARDENAFILO

Se analizó adicionalmente si la presencia de síndrome metabólico puede influir en los cambios observados en la expresión de las proteínas plasmáticas y en la puntuación del cuestionario IIEF debidos a la administración de vardenafilo.

La administración de este fármaco mejoró de manera similar el IIEF en pacientes con y sin síndrome metabólico (Tabla 18). El análisis estadístico mostró que independientemente de la presencia del síndrome metabólico, el uso de vardenafilo redujo significativamente los niveles plasmáticos de tropomiosina. Sin embargo, la expresión plasmática de la Apolipoproteína AI fue modificada de forma diferente por el tratamiento entre pacientes con y sin síndrome metabólico, aumentando su expresión plasmática en aquellos pacientes que no presentan síndrome metabólico.

Adicionalmente, el isotipo 4 de alfa 1 antitripsina se redujo significativamente después de la administración de vardenafilo en pacientes sin síndrome metabólico pero no alcanzó significación estadística en aquellos pacientes que padecen síndrome metabólico.

El tratamiento durante 12 semanas con vardenafilo no modificó la expresión del isotipo 6 de la alfa 1 antitripsina en el plasma de pacientes con y sin síndrome metabólico.

Sin embargo, al inicio del estudio, los pacientes sin síndrome metabólico tendieron a mostrar niveles más altos del isotipo 6 de alfa 1 antitripsina que aquellos con síndrome metabólico. El uso de vardenafilo parece tender a reducirlo más que en pacientes con síndrome metabólico aunque sin llegar a alcanzar la significación estadística.

Tabla 18.

Impacto del síndrome metabólico en los cambios de la puntuación del IIEF y en la expresión de las proteínas plasmáticas tras la administración de vardenafilo durante 12 semanas

VARIABLES	SIN SÍNDROME METABÓLICO (n=10)		CON SÍNDROME METABÓLICO (n=7)	
	Antes de Vardenafilo	Después de Vardenafilo	Antes de Vardenafilo	Después de Vardenafilo
IIEF	8,10±0,66	19,90±2,80*	9,86±1,41	16,43±2,31*
β-Tropomiosina	1,12±0,21	0,48±0,20*	1,04±0,22	0,33±0,15*
Apo AI Isotipo 5	Indetectable	0,69±0,52*	Indetectable	Indetectable
AAT Isotipo 4	3,29±0,93	2,36±0,64*	2,38±0,71	1,19±0,30
AAT Isotipo 6	4,24±1,77	2,04±0,61	2,34±0,71	1,33±0,24

8. LIBERACIÓN DE NITRATO/NITRITO, EXPRESIÓN DE FOSFODIESTERASA 5 Y SUBUNIDAD $\beta 1$ DE LA GUANILATO CICLASA SOLUBLE (sGC) Y CONTENIDO DE GMP_c EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES DE AORTA BOVINA

La expresión de la PDE-5 no se modificó significativamente en las CEAB, incubadas en las tres condiciones experimentales (Figura 24).

Estos tres tipos de incubación fueron:

- Grupo 1: Control.
- Grupo 2: α/β tropomiosina (20 μ g/ml).
- Grupo 3: α/β tropomiosina (20 μ g/ml) + vardenafilo (10 μ g/ml)

Tras el análisis de la muestra, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad total de nitrato/nitrito encontrada en los sobrenadantes de las CEAB incubadas con tropomiosina ni en las CEAB incubadas con tropomiosina y vardenafilo, en comparación con las células endoteliales incubadas en condiciones de control (Figura 31).

La expresión de la subunidad CGs- β 1 disminuyó significativamente en las CEAB incubadas con tropomiosina con respecto a los niveles encontrados en el control (Figura 25). La adición de vardenafilo (10 μ g/mL) no modificó la reducción en la expresión de la subunidad CGs- β 1 inducida por la presencia de tropomiosina.

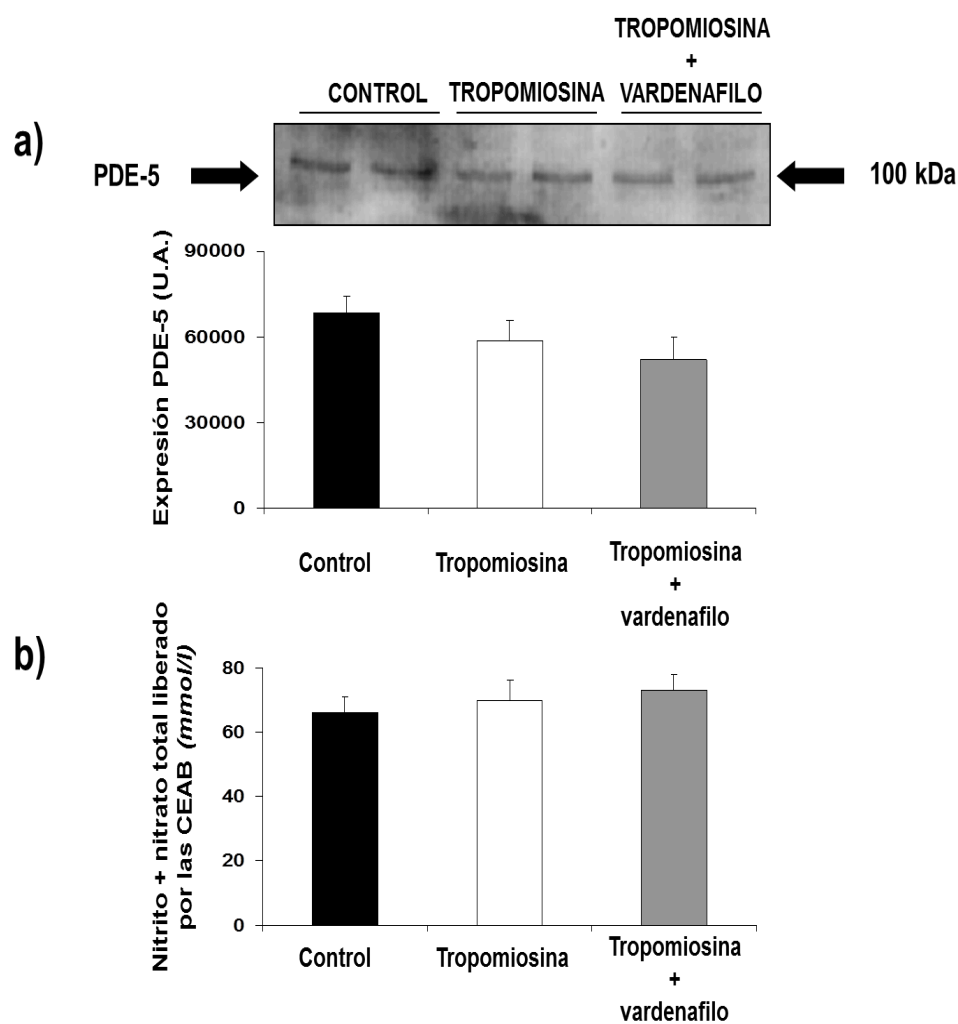


Figura 31.

a) Western Blot representativo que muestra el efecto de la coincubación de α/β -tropomiosina (20 μ g/ml) y vardenafilo (10 μ g/ml) en la expresión de PDE-5 en CEAB. Los gráficos de barras muestran el análisis densitométrico del Western Blot expresado en unidades densitométricas arbitrarias (UA). b) Los gráficos de barras muestran el grupo control, el efecto de la tropomiosina (20 μ g/ml) y el efecto de la coincubación con tropomiosina (20 μ g/ml) + vardenafilo (10 μ g/ml) en la liberación de nitrato/nitrito en las CEAB. Los resultados se representan como media \pm EEM. * $p < 0,05$ con respecto a las CEAB incubadas en ausencia de tropomiosina (control)

El cultivo de CEAB con tropomiosina redujo significativamente el contenido de GMPc en el mismo. En este caso la adición de vardenafilo (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) invierte la reducción de GMPc en las CEAB, previamente inducida por la presencia de tropomiosina (Figura 32).

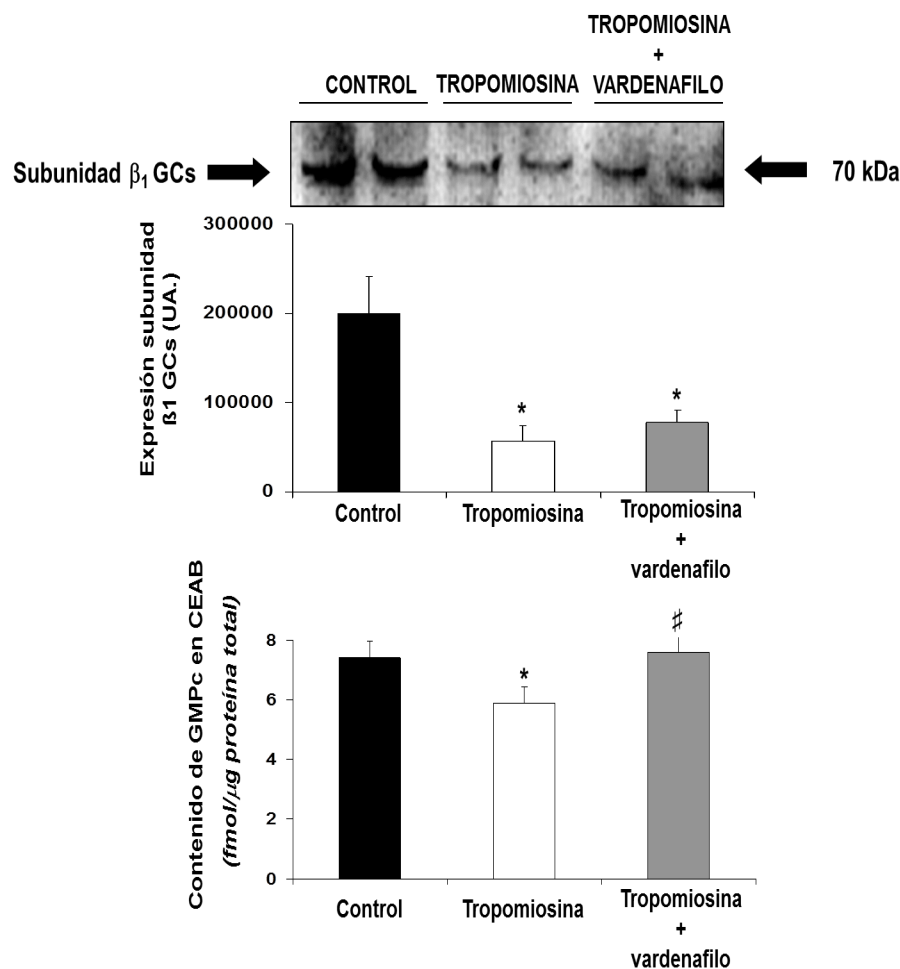


Figura 32.

Panel superior: Western blot mostrando el efecto de α/β -tropomiosina (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (n=4) y el efecto de α/β -tropomiosina (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + vardenafilo (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (n=4) en la expresión de la subunidad $\beta 1$ de guanilato ciclasa soluble (GCs $\beta 1$) en células endoteliales aórticas bovinas (CEAB). Las CEAB (n=4) sin tratamientos añadidos fueron utilizadas como control (n=4). Los gráficos de barras muestran el análisis densitométrico del Western blot expresado en unidades densitométricas arbitrarias (UA).

Panel inferior: Los gráficos de barras muestran el efecto de la tropomiosina (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y el efecto de la tropomiosina (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + vardenafilo (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en el contenido de GMPc intracelular en las CEAB. Los resultados se representan como media \pm EEM.

* P < 0,05 con respecto a las CEAB incubadas en ausencia de tropomiosina (control). # P < 0,05 con respecto a las CEAB incubadas con tropomiosina

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN

La disfunción eréctil (DE) es un problema de salud que presenta una alta prevalencia entre los hombres. Esta patología repercute de manera directa y relevante en la calidad de vida tanto del paciente aquejado por la misma como en la de su pareja.

Los datos referentes a estudios epidemiológicos sobre esta entidad, son escasos en nuestro entorno. Uno de los principales factores que ha propiciado este hecho, es la falta de estudios de investigación y ensayos que analizasen y pusieran relevancia en este problema. A todo esto, se añade la dificultad de muchos pacientes a la hora de abordar los distintos problemas que pueden surgir en relación con la esfera sexual y la falta de consulta con los profesionales de la salud sobre esta patología.

El estudio EDEM (Epidemiología de la Disfunción Eréctil Masculina)¹³² realizado en nuestro país entre 1998 y 1999 aporta cifras que hacen hincapié en la relevancia de este problema en nuestro entorno.

En este estudio la prevalencia de la DE en España fue del 12.1%. Esto se traduce en que aproximadamente entre 1.5 y 2 millones de varones en nuestro país padecen esta patología. En cambio, los datos referentes a las consultas médicas derivadas de este problema tan sólo alcanzan el 16,5% en este grupo. Este estudio es el primero que analiza

mediante el uso de proteómica el efecto de los inhibidores de la fosfodiesterasa 5 en los niveles de diferentes proteínas plasmáticas de pacientes diabéticos tipo 2 con disfunción eréctil tras la administración de vardenafilo durante 12 semanas.

Otros estudios prospectivos han sugerido que los eventos y procesos relacionados con la inflamación sistémica pueden estar relacionados con la DE y la enfermedad cardiovascular¹³³.

En el estudio de las proteínas plasmáticas de los pacientes incluidos en el presente trabajo, se describen los cambios relacionados con el efecto en las mismas y su relación con el tratamiento en referencia a la inflamación y otros eventos relacionados.

La alfafetoproteína (AFP) es una glicoproteína fetal con un peso de 69 KDa^{134,135}. Durante el desarrollo, la AFP humana se expresa y sintetiza secuencialmente por células del saco vitelino, hígado fetal y tracto gastrointestinal. En los adultos el gen de la AFP humana es silenciado mediante procesos de metilación y habitualmente sólo reaparece en casos de daño y regeneración hepática, tumores hepáticos sólidos o tumores germinales. La semivida plasmática de la AFP humana es de 3-4 días en la edad neonatal y pediátrica y asciende a 5-6 días en el plasma de sujetos adultos^{136,137}.

Hay suficiente evidencia para aseverar que los procesos inflamatorios, tanto en el feto como en la edad adulta, son la respuesta del tejido vascular a la irritación y las lesiones sufridas, que inducen una compleja sucesión de cambios tanto en la sangre, plasma¹³⁸, vasos sanguíneos y las células implicadas en el daño y la reparación. Todos estos eventos son fundamentalmente de tipo vascular, con aumento del flujo sanguíneo, incremento de la permeabilidad vascular y de la adhesión celular e infiltración tisular¹³⁹.

En esta cascada de acontecimientos, la AFP forma parte de un grupo de proteínas implicadas en la fase aguda de la inflamación. Sirven como ejemplo las reacciones inflamatorias de las afecciones víricas hepáticas¹⁴⁰.

En el presente trabajo, se constata que tras la administración de vardenafilo durante 12 semanas, hay un descenso en los niveles de APF. Este descenso podría indicar un efecto antiinflamatorio del tratamiento.

El colesterol y los triglicéridos son moléculas hidrófobas y no pueden transportarse de un modo libre por el plasma, por lo que necesitan asociarse a una serie de proteínas (apolipoproteínas) con las que forman, conjugándose, las lipoproteínas que si pueden ser transportadas por el plasma con facilidad.

La APO AI es una proteína que forma una parte fundamental de la lipoproteína HDL. De hecho, compone aproximadamente un 70% de la estructura completa de esta proteína. Es sintetizada en el hígado, así como en el intestino delgado.

El gen codificante de la APO AI es miembro de la superfamilia multigénica de apolipoproteínas “*Apolipoprotein multigene superfamily*”¹⁴¹.

La apolipoproteína A-I es el cofactor de la lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT). Esta enzima es la encargada de esterificar el colesterol tisular captado por el HDL.

Si bien la medición de la concentración de colesterol HDL ha demostrado que es un buen predictor del riesgo cardiovascular por su papel en diferentes aspectos que intervienen en la cascada de la disfunción endotelial, es razonable extrapolar esto a la apolipoproteína AI.

A pesar de que hay suficiente evidencia científica para aseverar que la Apo AI a bajas concentraciones, se asocia con un aumento del riesgo cardiovascular^{142,143}, existen algunas excepciones. En 1980 se descubre en el norte de Italia una variante mutante de la Apo AI a la que se denomina Apo AI milano (Apo AI M). Su extrañeza radica en que los bajos niveles de esta, no se relacionan con la enfermedad cardiovascular y sus portadores no padecen los efectos de la aterosclerosis pese a la baja concentración de esta^{144,145}. Otra excepción se da en la enfermedad de Tangier^{146,147}. Esta se caracteriza por un déficit de HDL plasmático con acumulación anómala de ésteres de colesterol en las células del sistema retículo-endotelial de diversos tejidos. En este caso, tampoco ese déficit de apolipoproteína AI se asocia a un aumento del riesgo cardiovascular. El descenso se ocasiona por una reducción en la síntesis y un incremento de la catálisis de unidades de HDL.

Se ha encontrado que la APO-AI es la única apoproteína componente del HDL2, siendo esta la fracción de HDL que está más directamente relacionada con riesgo cardiovascular¹⁴⁸. De hecho Maciejko, demostró cómo la APO-AI resulta más útil a la hora de identificar los sujetos con enfermedad coronaria que la sola medición de HDL plasmática¹⁴⁹.

En nuestro entorno, existen dos trabajos^{150,151} sobre la distribución de las apolipoproteínas en la población. En uno de ellos se estudian los valores de estas proteínas en una población de sujetos mayores de 15 años. Demostraron que los niveles de APO AI aumentaban en los varones hasta los 44 años, mientras que en las mujeres se constató un aumento que llegaba hasta los 59 años.

Las diferencias estructurales entre las diferentes isoformas de la Apo AI no han sido bien estudiadas. En humanos, las principales isoformas que encontramos son la Apo AI 3 y la Apo AI 4, con una composición de aminoácidos indistinguible^{152,153}.

En este trabajo, se ha objetivado que hay un descenso en los valores de las isoformas 1 y 2 y un aumento de las dos isoformas predominantes en la especie humana (Apo AI 3 y Apo AI 4) respecto a los niveles basales previos al inicio del tratamiento, sin alcanzar significación estadística. En cambio en la isoforma Apo AI 5 indetectable antes del inicio del estudio se demuestra un incremento sustancial ($p < 0.05$). Este incremento tan significativo de la Apo AI 5 es la primera vez, en nuestro conocimiento, que se demuestra en la literatura científica. Su significación biológica estaría relacionada tanto con el desarrollo de los procesos inflamatorios, como en la función y el efecto de la Apo AI en los procesos antiinflamatorios¹⁵⁴.

Las apolipoproteínas son sintetizadas a nivel hepático, a excepción de la Apo A-I, Apo A-II y Apo A-IV, que se secretan a nivel intestinal.

La Apo A-IV se expresa mayoritariamente a nivel del intestino delgado. Se trata de una proteína de 46 kDa, compuesta por 376 aminoácidos que es secretada y sintetizada por los enterocitos¹⁵⁵.

El gen que codifica la Apo A-IV humana se localiza en el cromosoma 11q compartiendo el mismo complejo que los genes de la Apo A I y la Apo C-III. Se considera que el gen codificante de la Apo A-IV se trata de una duplicación intraexónica del gen de la Apo AI.

Esta proteína tiene su acción fundamental a nivel intestinal, implicada en la absorción de lípidos provenientes de la dieta. Además, la apo A IV se relaciona directamente con la saciedad y regulación de la ingesta de alimentos, la motilidad gastrointestinal, la aterosclerosis, el flujo de colesterol de las células (de modo análogo a cómo puede realizarlo la apo AI) y la activación, como cofactor, de la lecitin colesterol acil transferasa¹⁵⁶⁻¹⁵⁹.

El efecto protector cardiovascular de la apolipoproteína A-IV ha sido estudiado ampliamente. La expresión de Apo A-IV en el hígado de ratones propensos al desarrollo de aterosclerosis, demostró un efecto protector contra esta¹⁶⁰. Aunque este efecto protector parece independiente de los niveles de colesterol HDL plasmático, se ha comunicado que las células hepáticas de estos ratones tenían una mayor capacidad para promover el eflujo de colesterol de estas células¹⁶¹.

En este sentido, en modelos murinos transgénicos que presentaban la capacidad de sobreexpresión de Apo A-IV, se demostró que esta lipoproteína tenía un efecto protector frente a la formación de lesiones aórticas mediadas por la dieta. Este hecho se relacionó con el efecto metabólico y antiaterogénico que presenta el colesterol HDL¹⁶¹.

En otros ensayos, en los cuales el objetivo ha sido el estudio del endotelio, la Apo A IV ha demostrado que es capaz de acelerar la diferenciación de las células mononucleares humanas en sangre periférica, logrando un efecto protector y de reparación del endotelio vascular tras agresiones locales de cualquier tipo¹⁶².

A pesar del efecto protector endotelial y cardiovascular demostrado por los niveles elevados de la Apolipoproteína A-IV, en nuestro estudio no sólo no hemos podido demostrar cambios significativos en el nivel de esta lipoproteína sino que, en contra de lo esperable, los niveles de Apolipoproteína A-IV mostraron un descenso respecto a los niveles basales en plasma, una vez concluido el tratamiento con vardenafilo durante 12 semanas.

La tropomiosina es una proteína ligadora de actina que se compone de dos cadenas helicoidales alfa que conforman un dímero en espiral. Este se ubica a lo largo de la longitud del filamento de actina, proporcionándole estabilidad y facilitando la interacción esencial entre actina y miosina.

Existen tres isoformas fundamentales de la tropomiosina, la subunidad alfa, la beta y la gamma, que se encuentran fundamentalmente en el músculo estriado humano de manera homogénea.

La subunidad alfa es codificada por el gen TPM1, la subunidad beta lo es por el gen TMP2 mientras que la subunidad gamma es codificada por el gen TMP3¹⁶³.

El gen TMP2 se sitúa en el brazo corto del cromosoma 9 (9p13) y forma parte de la superfamilia de proteínas tropomiosina.

La principal función de estas proteínas reside en la regulación de la contracción muscular, controlando y mediando la unión entre la actina y la miosina. Tiene un efecto crítico en las funciones de contracción y relajación vascular¹⁶⁴. Sin embargo, en las células no musculares, esta proteína ejerce un papel fundamental en la regulación de la configuración celular, manteniendo un estrecho control de las unidades sarcoméricas del interior celular muscular.

Resulta complicado identificar el origen de los niveles circulantes de β -tropomiosina. Es plausible considerar que la presencia de esta proteína en el plasma de los pacientes, sea la resultante del daño de las células del endotelio vascular. En este sentido debemos hacer hincapié en que la DE está asociada con un aumento del daño endotelial vascular y de la disfunción tisular a este nivel y por tanto es uno de los factores que favorece la detección de esta proteína en plasma circulante. Por tanto, es importante tener en cuenta que la DM es también un factor determinante para el daño endotelial¹⁶⁵ favoreciendo la liberación de proteínas relacionadas con el citoesqueleto a la circulación sistémica, tales como la β tropomiosina.

Un elevado número de micropartículas circulantes, derivadas del endotelio, se han observado en pacientes con DM tipo 2 y DE¹⁶⁶. Frente a la agresión, las micropartículas

derivadas del endotelio contienen β tropomiosina y contribuyen al incremento plasmático de esta proteína.

Es importante reseñar, como veremos más adelante, que la única proteína plasmática cuyos niveles se correlacionaron con los valores obtenidos en el cuestionario IIEF, fue la β tropomiosina. Este hecho pone en evidencia el impacto del tratamiento con vardenafilo en la expresión de la β tropomiosina, demostrado por un descenso marcado de la proteína y la mejoría en el resultado del cuestionario sobre función sexual, encontrándose una correlación inversa entre ambos parámetros.

Los niveles de β tropomiosina posteriores al tratamiento, son significativamente menores ($p=0.005$) que los valores plasmáticos basales, pudiendo deducir que el tratamiento durante 12 semanas con IPDE-5 reduce el daño endotelial y por tanto esto se refleja en una reducción notable de las proteínas derivadas del daño endotelial.

La correlación inversa entre sendos parámetros (resultados del cuestionario IIEF y los niveles de β tropomiosina) parecen indicar que la reducción del daño endotelial mediado por un efecto protector a este nivel del vardenafilo, hace que mejore de manera significativa la función sexual de los pacientes del estudio, reforzando la hipótesis que postulábamos al inicio de nuestro estudio.

Los desmosomas son uniones intercelulares que facilitan la integridad tisular, uniendo los filamentos intermedios del citoesqueleto de células adyacentes. Los desmosomas contienen las cadherinas desmosomales (desmogleinas y desmocollinas), cuyas regiones extracelulares forman la matriz de adhesión entre las células y cuyas regiones citoplasmáticas se unen a filamentos intermedios.

Este armazón citoesquelético está formado por placoglobinas y placofilinas que interaccionan con las cadherinas desmosomales y con las desmoplaquinas (miembro de la familia de las plaquinas)^{167, 168}.

La región terminal de la desmoplaquina se compone de 912 aminoácidos que se unen a los filamentos intermedios tales como la queratina, vimentina y desmina^{169 - 171}.

Las alteraciones de la desmoplaquina (delecciones o mutaciones) ocasionan enfermedades cardíacas, cutáneas y pilosas tales como la enfermedad de Carvajal, el pénfigo o la epidermiolisis bullosa^{172, 173}.

A consecuencia de la reacción inflamatoria, las uniones intercelulares se desacoplan del citoesqueleto para facilitar la extravasación de los leucocitos. Los diferentes estímulos de la cadena inflamatoria estimulan la expresión de selectinas y el factor activador de las plaquetas en la superficie de las células endoteliales. Este factor activador plaquetario estimula receptores leucocitarios provocando la expresión de integrinas y la inactivación de cadherinas y de la molécula de adhesión plaquetaria a las células endoteliales¹⁷⁴.

En el presente trabajo se trató de demostrar cambios en los niveles plasmáticos de la desmoplaquina. Como hemos visto previamente, los niveles de ésta, se relacionan con la inflamación y con la capacidad de permeabilidad vascular en las reacciones inflamatorias a nivel endotelial. En nuestro estudio, objetivamos un aumento de los niveles de desmoplaquina tras la administración de IPDE-5 durante 12 semanas que no llega a alcanzar entidad suficiente como para tener significación estadística y por tanto no podemos interpretarlos adecuadamente ni sacar conclusiones al respecto.

El fibrinógeno es una molécula precursora de la fibrina, que es la proteína fundamental en la formación del coágulo, junto con las plaquetas activadas, tanto en los eventos primarios como en aquellos derivados de la ruptura de la placa de ateroma¹⁷⁵.

El fibrinógeno humano es una glicoproteína con estructura química dimérica. Está constituida por tres pares de cadenas polipeptídicas denominadas alfa, beta y gamma respectivamente. Se considera que su síntesis se ve incrementada mediante un mecanismo basado en la retroalimentación, que es mediado por sus propios productos de degradación, así como a través de la participación de citoquinas como la interleucina 6 (IL-6), producidas por los macrófagos activados en la fase aguda de la respuesta inflamatoria¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. La etiología de esta reacción inflamatoria puede ser muy diversa, pudiendo ser causada ésta por agresiones físicas, químicas, infecciones bacterianas, víricas, parásitos o incluso por neoplasias. De este modo se regula su papel como reactante de la fase aguda de la inflamación, pudiendo aumentar su concentración¹⁷⁹.

En estudios publicados en la década de 1950^{180,181}, se observó que pacientes con cardiopatía isquémica tenían concentraciones de fibrinógeno plasmático elevadas. Durante los últimos quince años, la evidencia de que la hiperfibrinogenemia representa un factor de riesgo cardiovascular ha ido consolidándose, llegando incluso a conferirle un valor predictivo¹⁸²⁻¹⁸⁴, dada su íntima relación con la cadena inflamatoria y la trombogénesis^{185,186}.

Distintas isoformas tanto del fibrinógeno como de la haptoglobina se encuentran sobreexpresadas en pacientes hipercolesterolémicos, tal y como se ha podido comprobar en estudios sobre el proteoma de este tipo de pacientes¹⁸⁷. Ésta condición da lugar a un estado proinflamatorio que va a originar la resistencia a la insulina y diabetes. Por tanto, la cadena gamma del fibrinógeno es considerada como un factor de riesgo cardiovascular emergente, que incluye la enfermedad arterial coronaria¹⁸⁸, el infarto de miocardio¹⁸⁹⁻¹⁹¹ y el ictus¹⁹².

Recientes estudios también han demostrado la asociación entre la cadena gamma del fibrinógeno y la PCR¹⁹³ (marcador de riesgo asociado a la enfermedad cardiovascular¹⁹⁴).

En este ensayo realizado sobre la población de pacientes con DM y DE, apreciamos un descenso de los niveles de la cadena gamma del fibrinógeno desde los niveles basales, una vez que estos individuos han recibido el tratamiento con vardenafilo durante 12 semanas. Este descenso era el esperable dado el efecto antiinflamatorio a nivel endotelial que presuponíamos en nuestra hipótesis, del tratamiento con IPDE-5. Este dato se puede constatar en todas las isoformas de la cadena gamma del fibrinógeno (isotipos 1-3). Sin embargo, no se ha alcanzado en ninguno de estos isotipos individualmente la significación estadística que nos permita extraer conclusiones al respecto, si bien queda patente la tendencia a la baja de estos valores tras el periodo que comprende este estudio.

La alfa 1 antitripsina (AAT) - un inhibidor de la serin proteasa con efectos antiinflamatorios, antimigratorios de leucocíticos, antitrombóticos y antiapoptóticos¹⁹⁵⁻¹⁹⁸, ejerce efectos citoprotectores in vitro¹⁹⁹ - es otra de las proteínas que están directamente implicadas en la inflamación. Se le considera un importante reactante de fase aguda. Una de sus principales funciones es la de inhibir a diferentes proteasas como la elastina o la tripsina, principalmente a nivel de los neutrófilos. La expresión de AAT aumenta bruscamente en respuesta a la inflamación, disminuyendo la duración y la magnitud de esta²⁰⁰.

La AAT es el inhibidor de proteasa más abundante en el ser humano. Su vida media es de tres a cinco días y su determinación plasmática nos da un valor aproximado del 40% del total, dado que el 60% restante se encuentra a nivel tisular. Se sintetiza fundamentalmente en el hígado, también puede ser sintetizada en el epitelio alveolar, en páncreas y colon. Ante determinados estímulos como eventos inflamatorios, tumorales o infecciosos su producción puede elevarse de dos a cinco veces²⁰¹.

Los efectos antiinflamatorios²⁰² de la AAT están mediados por el incremento de la secreción de la IL-10 y la disminución de la secreción de IL-6²⁰³, limitando la infiltración tisular de neutrófilos y macrófagos²⁰⁴ y reduciendo la traslocación nuclear del NF-kb (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas)²⁰⁵. Por otro lado, AAT es capaz de bloquear la respuesta del lipopolisacárido en las células humanas²⁰⁶⁻²⁰⁷, frena la migración de los neutrófilos y se une directamente a la IL-8 en el tejido graso^{208,209}.

El interés de la determinación de la AAT se apoya en su utilidad en modelos animales de artritis reumatoide²¹⁰, esclerosis múltiple²¹¹, lupus eritematoso sistémico^{212, 213}, colitis ulcerosa²¹⁴⁻²¹⁶ y DM tipo 1^{203, 204, 217}. En este ensayo se han aislado y determinado los valores de la AAT en sus diferentes isotipos (7 isoformas de la AAT) antes y después del tratamiento con vardenafilo. En todos los casos se aprecia un efecto antiinflamatorio del tratamiento, con un descenso en todas ellas tras la administración de IPDE-5. Si bien este descenso es generalizado en el análisis comparativo del proteoma del suero de pacientes con DM tipo 2 y DE, es más acentuado en el caso de las isoformas 4 y 6 de la AAT. Estos datos se relacionan con los efectos antiinflamatorio derivado de la administración del fármaco, reduciendo los reactantes de fase aguda. Es importante reseñar que la reducción de la AAT como marcador inflamatorio no ha demostrado una correlación directa con la mejoría de los parámetros del cuestionario IIEF, a diferencia de lo que ocurriría con la β -tropomiosina.

La vitamina D juega un papel mediador de la regulación del metabolismo del calcio – fosfato y su acción sobre la composición y mantenimiento de la estructura ósea está suficientemente establecido. Sin embargo, en las últimas décadas se ha acrecentado el interés por averiguar otros efectos biológicos de esta vitamina, en paralelo a los que ya son conocidos. El estudio de la vitamina D3 ha puesto de manifiesto diferentes efectos biológicos relacionados con el aparato respiratorio y la inmunidad.

Diversos trabajos han sugerido que, de manera adicional al papel de las citocinas que intervienen en la cadena inflamatoria, la vitamina D también contribuye a la diferenciación de las células T CD4⁺²¹⁸. Algunos estudios in vitro han demostrado que la forma activa de la vitamina D3 (1 α ,25-dihidroxi vitamina D3) inhibe la secreción de INF- γ - con el consiguiente bloqueo en la activación de las células natural killer (NK) y macrófagos - e incrementa la producción de IL-4 - limitando la respuesta Th1 y promoviendo la diferenciación celular hacia Th2²¹⁹⁻²²³-. Adicionalmente, la forma activa de la vitamina D3 inhibe la diferenciación celular hacia Th17 e induce la diferenciación hacia células T reguladoras²²⁴⁻²²⁶.

Se estima, por consiguiente, que la vitamina D tiene un importante papel antiinflamatorio y su deficiencia se ha asociado con un incremento en el riesgo de diabetes tipo 1²²⁷ y otras enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico²²⁸ y la esclerosis múltiple^{229,230}.

Uno de los factores cruciales en la biodisponibilidad de la vitamina D es la proteína fijadora de vitamina D junto con la albúmina. La forma activa de la vitamina D se transporta en el plasma, unida a esta proteína en un 85-90%, mientras que tan solo un 10-15% se une a la albúmina siendo solo el 1% la proporción de la misma que se encuentra circulando libre^{231,232}.

Estudios murinos (*knock-out*) de la proteína fijadora de vitamina D han demostrado que esta actúa como reservorio de la vitamina protegiéndola de la degradación y de la excreción renal²³³.

Genéticamente la vitamina D es miembro de la familia de la albúmina y la alfa-fetoproteína. El gen de la proteína fijadora de la vitamina D humana se encuentra en el brazo largo del cromosoma 4 (4q12-q13). Su gen codificante es altamente polimórfico

con tres variantes comunes (GC1F, GC1S y GC2). Estas variantes generan diversos isotipos proteicos²³⁴⁻²³⁵.

En este análisis proteómico se han identificado tres isoformas de la proteína ligadora de vitamina D. Tal y como se describe con anterioridad sobre la acción antiinflamatoria de la vitamina D, lo esperable era que un aumento de la unidad proteica que la transporta conllevara en paralelo un aumento de la vitamina D disponible y por ende, el efecto antiinflamatorio tras una agresión local, debería ser menor. Sin embargo, este estudio muestran que tan solo la isoforma 1 presenta un mínimo ascenso. Por el contrario, las isoformas 2 y 3, muestran un descenso, que es más acusado en el caso de la isoforma 3, si bien en las tres variantes los valores no alcanzaron grado de significación estadística.

Por todo ello y a tenor de los resultados de este trabajo, parece que la vitamina D y su proteína fijadora, no se han visto alteradas por el tratamiento con IPDE-5. Sorprende en cualquier caso la tendencia al descenso de esta proteína, cuando el efecto esperable a priori era un aumento.

La haptoglobina es una glicoproteína de aproximadamente 91 kDa. Se sintetiza en el hígado, pero también se ha descrito la síntesis en el tejido graso, piel, riñón, pulmones y bazo. Su principal función reside en el transporte de la hemoglobina en su localización extracorpúscular, de tal modo que previene la filtración a nivel glomerular de la hemoglobina libre. De este modo se evita por un lado la pérdida de hierro y por otro lado se previene la precipitación de esta en la vía urinaria.

La hemólisis de los glóbulos rojos y la acumulación extracelular de hemoglobina, genera numerosos cambios a nivel bioquímico, biológico y fisiológico con un daño y un estrés oxidativo local.

La hemoglobina interacciona con el óxido nítrico, superóxido y peróxido de hidrógeno y es capaz de secuestrar al óxido nítrico, reduciendo de este modo su biodisponibilidad. Estos hechos son los responsables de una vasoconstricción mantenida. Adicionalmente, la hemoglobina interactúa con el peróxido de hidrógeno y el superóxido, aumentando los radicales libres de oxígeno²³⁶ y la peroxidación lipídica. Todo este conjunto de efectos, potencian la inflamación y el daño tisular principalmente a nivel del endotelio vascular. En paralelo, los componentes de la hemoglobina pueden interactuar con diferentes receptores inmunes celulares específicos²³⁷⁻²³⁹ para perpetuar la inflamación vascular²⁴⁰.

La haptoglobina se comporta como otro reactante de fase aguda que aumenta su síntesis ante determinados desencadenantes inflamatorios^{241, 242}. La concentración de haptoglobina a nivel local y también en el plasma puede incrementar de manera exponencial ante el influjo de la IL-6²⁴³.

La haptoglobina es capaz de modular la respuesta inflamatoria innata y adaptativa. Es capaz de ligarse a neutrófilos activados, logrando la inhibición de sus funciones²⁴⁴. Esta proteína suprime la secreción de TNF- α , IL-10 e IL-12p70 por los macrófagos²⁴⁵.

El complejo hemoglobina-haptoglobina, adicionalmente, se une a la molécula CD163 de los macrófagos, logrando una secreción de citocinas antiinflamatorias²⁴⁶. Por otro lado, la haptoglobina afecta a la proliferación y secreción de citocinas por parte de los LB y LT activados²⁴⁷.

En esta tesis se estudiaron 6 isoformas de la haptoglobina y los cambios en el plasma tras la administración del fármaco. En 5 de las 6 isoformas se pudo evidenciar un descenso de los niveles de haptoglobina, traduciendo de este modo una disminución de un importante reactante de fase aguda. Tan solo en la isoforma 5 se aprecia un discreto aumento

frente al nivel basal en el plasma, previo al tratamiento. Estos hechos hablan a favor de un efecto antiinflamatorio del tratamiento con inhibidores de la fosfodiesterasa 5.

TRASCENDENCIA CLÍNICA

En el presente ensayo se ha analizado por primera vez, mediante el uso de proteómica, el efecto de la administración de un inhibidor de la fosfodiesterasa 5 (vardenafilo) en los niveles de diversas proteínas plasmáticas en pacientes con DM tipo 2 y DE.

Entre los niveles basales y finales, la comparativa arroja que tan solo los niveles de la β -tropomiosina han demostrado una asociación inversa, estadísticamente significativa, con la mejoría en cuanto a función sexual, reflejada en los resultados de la encuesta IIEF, tras 12 semanas de administración de vardenafilo, independientemente de la dosis.

Diversos estudios prospectivos sugieren que la inflamación sistémica se relaciona con la DM y la enfermedad cardiovascular¹³³.

El estudio comparativo del proteoma del plasma, antes y después de la administración de vardenafilo, ha puesto de manifiesto que los niveles de los isotipos 4 y 6 de la AAT, descendieron tras el tratamiento con este fármaco. Adicionalmente, tras la administración de vardenafilo, los niveles plasmáticos de Apo AI (isotipo 5), se vieron incrementados. Como ya indicamos con anterioridad, aunque no se ha estudiado previamente el papel de los isotipos de la apolipoproteína AI en los trastornos inflamatorios, el efecto de la Apo AI como potente antiinflamatorio, si esta bien documentado.

Todos estos datos, sugieren el efecto antiinflamatorio del tratamiento con vardenafilo en pacientes con DM tipo 2 y DE. El hecho de que los IPDE-5 sean capaces de reducir la inflamación sistémica, ha sido publicado con anterioridad²⁴⁸. Sin embargo, no se pudo

establecer si la reducción de la inflamación sistémica estaba vinculada al posible efecto antiinflamatorio del tratamiento con vardenafilo y por ende a la mejora en la disfunción sexual. A este respecto, un estudio de Roumeguère et al. demostró que el tadalafilo era capaz de disminuir los niveles del ratio ApoB/Apo AI pero en voluntarios sin DE²⁴⁹.

En esta tesis la única proteína cuya expresión plasmática se asocia con los valores obtenidos en el cuestionario de función sexual IIEF, es la β -tropomiosina. De hecho, los niveles de β -tropomiosina se vieron inversamente relacionados con el resultado del IIEF, sugiriendo una posible relación entre la mejoría de la funcionalidad a nivel de los cuerpos cavernosos con cambios en los niveles plasmáticos circulantes de β -tropomiosina, en pacientes con DM y DE.

β -tropomiosina

La β -tropomiosina en plasma, se relaciona con un aumento del daño celular en relación con la disfunción endotelial, favorecido y empeorado por la DM, que facilita la liberación de proteínas del citoesqueleto al torrente sanguíneo, entre las que se incluye a la β -tropomiosina.

Con independencia del origen de la tropomiosina vertida al torrente sanguíneo y que se pudo detectar en este estudio del plasma de pacientes con DM tipo 2 y DE, la pregunta que se genera ante los resultados es si la β -tropomiosina puede, por sí misma participar en la disfunción eréctil o es dependiente de la situación patológica. Para contestar a esta pregunta se realizó la liberación de Nitrato/Nitrito, expresión de fosfodiesterasa 5 y subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (GCs) y contenido de GMPc en las células endoteliales de aorta bovina. Se fundamentó en que las células endoteliales contienen toda la maquinaria necesaria del sistema óxido nítrico y GMPc²⁵⁰, incluyendo la capacidad de expresión de la enzima fosfodiesterasa 5^{251, 252}. Al utilizar las células endoteliales

de aorta bovina (CEAB), como un sistema biológico se podría confirmar si la tropomiosina era capaz de afectar al sistema NO/GMPc endotelial.

En los cultivos de CEAB, la tropomiosina logró una reducción significativa de la subunidad $\beta 1$ de la guanilato ciclasa soluble (GCs). La GCs es una de las dos subunidades que son necesarias para ligar el NO y así formar el GMPc²⁵³. Esta reducción de la subunidad $\beta 1$ de la GCs, se acompañó de una reducción del contenido de GMPc en las CEAB incubadas con tropomiosina. Estos resultados verifican que la β -tropomiosina es capaz de promover una disfunción endotelial que resulta en una disminución de la capacidad de producción de GMPc en la pared del vaso.

En referencia a un hipotético mecanismo molecular por el cual la β -tropomiosina ocasiona el descenso de la expresión de la subunidad $\beta 1$ de la GCs hay que reseñar que no existen publicaciones hasta la fecha que asocien la presencia de β -tropomiosina con la subunidad $\beta 1$ de la GCs y con la DE. No obstante hay evidencias a favor de la modulación de la GCs por diferentes factores, vg: radicales libres de oxígeno y factores de crecimiento^{254,255} y se ha determinado que las integrinas RGD (Arg-Gly-Asp), presentes en varias proteínas extracelulares, pueden modificar la expresión de la GCs²⁵⁶. Pero este último dato no puede justificar el descenso de la expresión de la subunidad $\beta 1$ al no presentar la β -tropomiosina integrinas RGD en su secuencia polipeptídica.

En los experimentos in vitro realizados en este trabajo, la adición de vardenafilo, no logró prevenir la reducción de la subunidad $\beta 1$ de la GCs, inducida por la presencia de β -tropomiosina. Sin embargo, la presencia de vardenafilo, si era capaz de restablecer los niveles de GMPc en las CEAB incubadas en un medio con β -tropomiosina, en comparación con aquellas CEAB en el medio control.

Probablemente, el hecho de que la presencia de vardenafilo sea capaz de restablecer los niveles de GMPc contenido a nivel endotelial, sin lograr modificaciones en la expresión de la subunidad $\beta 1$ de la GCs, se deba a la capacidad inhibitoria del vardenafilo sobre la actividad de la enzima fosfodiesterasa 5. Por ese motivo, incluso en presencia de tropomiosina, el vardenafilo sería capaz de lograr la acumulación de GMPc en las CEAB. No obstante se necesitarán más estudios para determinar las vías moleculares involucradas en la regulación negativa de la GCs mediada por la β -tropomiosina.

Nuevas expectativas: β -tropomiosina como predictor de patología cardiovascular severa

La disfunción endotelial está íntimamente ligada a la aterogénesis y a un riesgo aumentado de patología cardiovascular²⁹. La liberación de diferentes agentes vasoactivos, principalmente óxido nítrico, es el hecho precursor de la disfunción endotelial a nivel de las células vasculares²⁵⁸.

La liberación de óxido nítrico en el espacio sub-luminal tiene un efecto vasodilatador y antiproliferativo²⁵⁸ y su liberación ab-luminal tiene un efecto antiplaquetario a nivel de adhesión y anticoagulación.

La disfunción endotelial debida a las alteraciones de síntesis, acción o liberación del óxido nítrico se caracteriza por efectos procoagulantes, vasoconstrictores y que favorecen la adhesión y estimulación leucocitaria y la proliferación celular, provocando de este modo una consecuencia directa aterogénica (Figura 33).

Se conocen bien los clásicos factores de riesgo cardiovasculares como la edad, el tabaquismo, la hipertensión, la hiperlipemia y la diabetes mellitus, así como otros factores de riesgo menos nombrados como la inflamación, hipoxia, estrés oxidativo y homocisteinemia^{259, 260}.

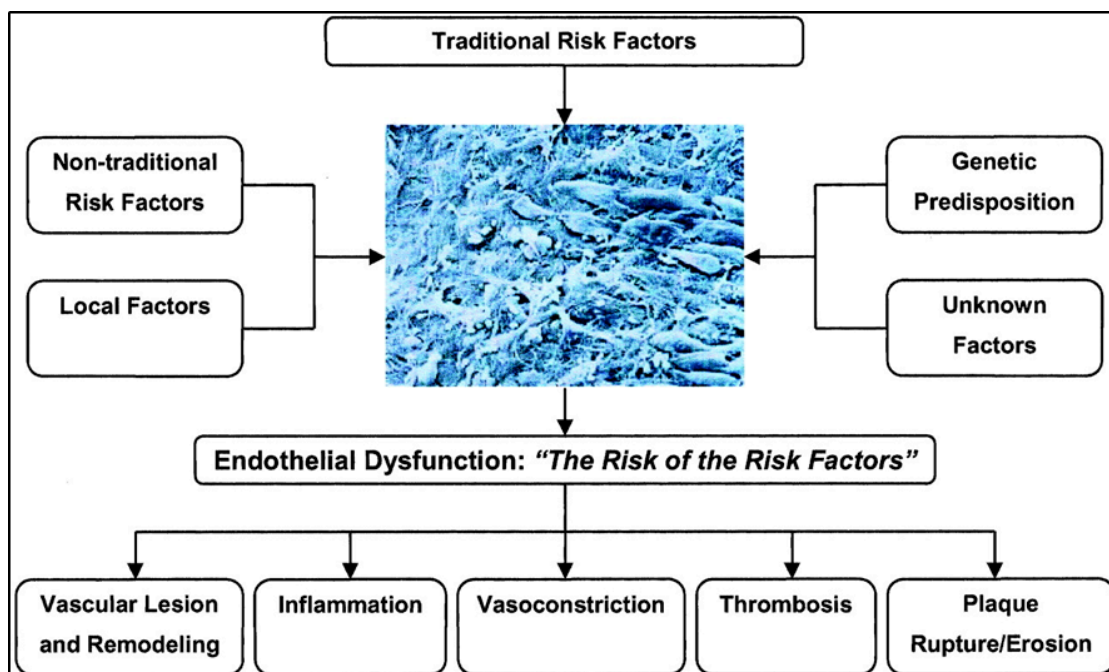


Figura 33.

Disfunción endotelial como "riesgo de los riesgos".

Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:168-75.

Algunos estudios indican que el riesgo de padecer disfunción endotelial, responde entre otros factores al número de factores de riesgo que presenta el paciente^{29,261}.

Por otro lado, como ya se ha descrito previamente, la disfunción endotelial juega un papel fundamental en la patogénesis del síndrome coronario agudo, tanto en la angina inestable como en el infarto agudo de miocardio. Todo esto es debido a una interacción de los factores inflamatorios y procoagulantes que facilitan la adhesión y la ruptura de la placa.

Dado que la DE y la patología cardiovascular están íntimamente vinculadas por todos estos factores predisponentes, compartiendo una fisiopatología en muchas ocasiones su-

perponible, se ha demostrado sobradamente que la DE es un marcador pronóstico de patología cardiovascular. No obstante, la prevalencia de la DE es tres veces superior en los pacientes diabéticos que en el resto de población general y por otro lado se ha constatado que la prevalencia de patología cardiovascular es muy superior en aquellos pacientes con DE y DM. De hecho, se postula que la DE es un marcador de patología cardiovascular silente en pacientes con DM tipo 2 no complicada.

Cabe destacar que la patología cardiovascular silente, empeora el pronóstico de los pacientes diabéticos y por eso es crucial identificar esta enfermedad y condiciones que favorecen la misma. Esta asociación entre DE y patología cardiovascular es superior en pacientes más jóvenes (principalmente en menores de 65 años).

Entre las principales funciones de la β -tropomiosina se encuentran la contracción y relajación vascular¹⁶⁴ y la regulación de la configuración celular, manteniendo un estrecho control de las unidades sarcoméricas del interior celular muscular. Es por tanto razonable considerar que la presencia de esta proteína en el plasma sea la resultante del daño de las células del endotelio vascular y la posterior liberación de proteínas relacionadas con el citoesqueleto a la circulación sistémica. Los niveles de β -tropomiosina se pueden cuantificar en plasma y podrían utilizarse para medir la gravedad del daño endotelial. Como se ha mencionado previamente las arterias del pene tienen un calibre inferior a las coronarias (1-2 mm de diámetro vs 3-4 mm de diámetro) y son por esta razón las primeras en padecer las consecuencias de la arterioesclerosis. Estos datos anatómicos se han relacionado con los estudios clínicos que mostraron a la DE como un marcador precoz de las enfermedades cardiovasculares. Hasta en el 64% de los pacientes con DE de origen vascular sufrió más adelante un infarto de miocardio, manifestándose la DE clínicamente antes que el paciente supiera que padecía un proceso cardiovascular. En este contexto se podría utilizar los niveles de β tropomiosina para evaluar que pacientes

con diabetes DM tipo 2 y DE son subsidiarios de realizar una prueba de esfuerzo para descartar isquemia cardiaca subclínica.

El papel determinante de los inhibidores de la fosfodiesterasa 5, como vardenafilo, está poco a poco adquiriendo relevancia en nuestro medio dado que parece que estos fármacos han demostrado que pueden conferir beneficios a nivel de la circulación sistémica contra el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores²⁶². Tanto sildenafil, tadalafilo como vardenafilo, han constatado un efecto cardioprotector a nivel de los efectos deletéreos del proceso de isquemia-reperfusión y han demostrado reducir las arritmias y mejorar la función cardiaca global²⁶³⁻²⁶⁸. Cabe destacar que algunos estudios han evidenciado que el uso de IPDE-5, se asocia con una disminución de la mortalidad en pacientes con DM tipo 2 con alto riesgo cardiovascular²⁶⁹. La disminución de los niveles de β tropomiosina en plasma podría servir como marcador cardioprotector.

En ambos casos serán necesarios estudios aleatorizados y controlados para determinar la utilidad de la β tropomiosina como marcador de isquemia miocárdica severa en la asociación de DM tipo 2 y DE.

Limitaciones del estudio

Limitaciones del presente estudio se presentan a la hora de establecer si la diabetes tipo 2, por sí misma, incrementaba los niveles de tropomiosina, y el hecho de no poder descartar que otras comorbilidades, tales como el síndrome metabólico pudieren modificar el efecto del vardenafilo sobre el proteoma independientemente de la disfunción eréctil.

A este respecto, también se pudo constatar que el vardenafilo mejoró el resultado del cuestionario del IIEF y redujo los niveles de tropomiosina plasmáticos en ambos tipos

de pacientes, tanto en los que padecen síndrome metabólico como en los que no presentaban esta característica.

En cambio, el tratamiento durante 12 semanas con vardenafilo, modifica el perfil proteico a nivel plasmático de los pacientes, de manera diferente en sendos grupos (con y sin síndrome metabólico). Esto sugiere que, en estos pacientes, las diferentes comorbilidades asociadas a la DE, influyen en el efecto del vardenafilo sobre el proteoma.

Todos estos hechos, analizados conjuntamente, sugieren que los niveles presentes de la tropomiosina plasmática, se asocian más directamente con la DE de lo que lo hace la DM por sí misma. Sin embargo, harán falta estudios más específicos para poder clarificar estas hipótesis.

Otras limitaciones que cabe destacar es la utilización de tropomiosina α/β , - dado que no es posible encontrar β -tropomiosina purificada en solitario - en el estudio in vitro. Aunque la tropomiosina α y la tropomiosina β comparten entre ambos el 86% de la secuencia de aminoácidos²⁵⁷, no podemos asegurar que tengan la misma capacidad para reducir la expresión de la subunidad $\beta 1$ de la GCs en las CEAB.

Evidentemente el diseño experimental desarrollado, no permite discernir si la reducción de los niveles circulantes de β -tropomiosina observada en el plasma de los pacientes tras el tratamiento con vardenafilo, fue dependiente de la mejora en la función sexual, por la inhibición de la descomposición del GMPc o si por el contrario era una consecuencia de un efecto directo del vardenafilo sobre la liberación de tropomiosina en la circulación sistémica.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El tratamiento con el inhibidor de la 5-fosfodiesterasa, vardenafilo, en pacientes diabéticos con disfunción eréctil, reduce los niveles plasmáticos de diferentes biomarcadores relacionados con la inflamación y la aterogénesis.
2. El papel protector endotelial del vardenafilo se ejercería a través de la disminución de la inflamación sistémica, el estrés oxidativo y el incremento de la capacidad regenerativa celular.
3. Los niveles elevados de beta tropomiosina en plasma, indican daño celular e inducen la pérdida de la capacidad regenerativa celular. La beta tropomiosina se vislumbra como un marcador de respuesta al tratamiento con vardenafilo.

CAPÍTULO 8

BIBLIOGRAFÍA

1. Brenot PH, editor. Male impotence: a historical perspective. Bedous: L'Esprit du Temps, 1994;27-79.
2. Paré, Ambroise. Dix livres de la chirurgie: avec le magasin des instrumens necessaires à icelle. 1564.
3. Valiquette Luc. A historical review of erectile dysfunction. Can J Urol. 2003 Feb;10 Suppl 1:7-11.
4. National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Conference.
5. 3rd International Consultation on Sexual Medicine celebrado en Paris en 2010.
6. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, et al: Impotence and its medical and psychosocial correlates: Results of the Massachusetts Male Aging Study. J Urol, 1994;151:54-61.
7. Johannes CB, Araujo AB, Feldman HA, et al: Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: Longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study. J Urol, 2000;163:460-463.
8. Lauman EO, Paik A, Rosen RC. The epidemiology of erectile dysfunction: results from the National Health and Social Life Survey. Int J Impot Res 1999;11(Suppl 1):560-4.
9. Cohen PG. Sexual dysfunction in the United States. JAMA. 1999 Oct 6;282(13):1229.
10. Lauman EO, Nicolosi A, Glasser DB, et al. Sexual problems among women and men aged 40-80 years: prevalence and correlates identified in the Global Study of Sexual Attitudes and Behaviors. Int J Impot Res 2005;17:39-57.
11. Lauman EO, Paik A, Rosen RC: Sexual dysfunction in the United States: Prevalence and predictors. JAMA, 1999;281:537-544.

12. Fisher W, Rosen RC, Eardley I, et al. The multinational men's attitudes to life events and sexuality (MALES) study phase II: understanding PDE5 inhibitor treatment seeking patterns among men with erectile dysfunction. *J sex Med* 2004;1:150-60
13. Martin Morales A, Sánchez Cruz JJ, Sáenz de Tejada I, et al. Prevalence and independent risk factors for Erectile Dysfunction In Spain: Results of EDEM study. *J Urol* 2001;166(2):569-575.
14. Goldstein I: Male sexual circuitry. Working Group for the Study of Central Mechanisms in Erectile Dysfunction. *Sci Am*, 2000;283:70-75.
15. Yarnitsky D, Sprecher E, Barilan Y et al. Corpus cavernosum electromyogram: spontaneous and evoked electrical activities. *J Urol*, 1995; 153: 653.
16. Mas M. Bases moleculares de la erección. *Arch. Esp. Urol.* 2010; 63 (8): 589-598
17. DiSanto ME, Wang Z, Menon C, Zheng Y, Chacko T, Hypolite J, Broderick G, Wein AJ, Chacko S. Expression of myosin isoforms in smooth muscle cells in the corpus cavernosum penis. *Am J Physiol.* 1998 Oct;275(4 Pt 1):C976-87.
18. DiSanto ME, Cox RH, Wang Z, Chacko S. NH2-terminal-inserted myosin II heavy chain is expressed in smooth muscle of small muscular arteries. *Am J Physiol.* 1997 May;272(5 Pt 1):C1532-42.
19. Somlyo AP and Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol*, 2000; 522 Pt 2: 177.
20. Lue TF. Erectile dysfunction. *N Engl J Med.* 2000 Jun 15;342(24):1802-13.
21. Dean RC and Lue TF. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am*, 2005; 32: 379.
22. Lue TF, Tanagho EA, McClure RD. Hemodynamics of erection, In. Contemporary management of impotence and infertility, Contemporary management of impotence and fertility Williams & Wilkins, 1988; 28-38.
23. Sachs BD. The false organic-psychogenic distinction and related problems in the classification of erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 2003 Feb;15(1):72-8.
24. Jackson G. Erectile dysfunction and cardiovascular disease. *Int J. Clin Pract.* 1999; 53:363-8.
25. Ganz P. Erectile dysfunction: pathophysiological mechanisms pointing to underlying cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2005 26; 96(12B):8M-12M.

26. Solomon H, Man JW, Wierbicki AS, et al. Relation of erectile dysfunction to arteriographic coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2003; 91:230-1
27. Demir T, Demir O, Kefi A, et al. Prevalence of erectile dysfunction in patients with metabolic syndrome. *Int J Urol*. 2006; 13:385-8.
28. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315:1046-1051.
29. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:168-75.
30. Burnett AL. Nitric oxide in the penis: Physiology and pathology. *J Urol* 1997;157:320-4.
31. Watts G, Chew KK, Stuckey BGA. The erectile endothelial dysfunction nexus: New opportunities for cardiovascular risk prevention. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:263-73.
32. Ganz P, Vita JA. Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation* 2003;108:2049-2053.
33. Quyyumi AA. Prognostic value of endothelial function. *Am J Cardiol*. 2003 Jun 19;91(12A):19H-24H.
34. Astorbieta A, Gamarra M, Pereira JG, Leibar A, Ibarluzea G. Disfunción eréctil de origen vascular. *Arch. Esp. Urol*. 2010; 63 (8): 611-620.
35. Hanefeld M, Appelt D, Engelmann K, Sandner D, et al. Serum and Plasma Levels of Vascular Endothelial Growth Factors in Relation to Quality of Glucose Control, Biomarkers of Inflammation, and Diabetic Nephropathy. *Horm Metab Res*. 2016 Sep;48(9):620
36. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*. 2002;90:40-8.
37. Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: A comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol* 2006;5:4.
38. Costa C, Virag R. The endothelial-erectile dysfunction connection: An essential update. *J Sex Med* 2009;6:2390-404.
39. Cordeiro AL, Figueiredo A, Tomada I, de Almeida H, Neves D. Characterization of the expression of Ang1, Ang2, and Tie2 in the Corpus Cavernosum of the rat during aging. *Microsc Microanal* 2010;16:699-709.

40. Maxwell AJ. Mechanisms of dysfunction of the nitric oxide pathway in vascular diseases. *Nitric Oxide* 2002;6:101–24.
41. Goldstein I. The association of ED (erectile dysfunction) with ED (endothelial dysfunction) in the International Journal of Impotence Research: The Journal of Sexual Medicine. *Int J Impot Res* 2003;15:229–30.
42. Tarhan F, Kuyumcuoğlu U, Kolsuz A, Özgül A, Cangüven O. Cavernous oxygen tension in the patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res*. 1997 Sep;9(3):149–53.
43. Moreland RS, Coburn RF, Moreland S. Decreased PO₂ and rabbit aortic smooth muscle mechanics. *J Vasc Res*. 1995 Sep-Oct;32(5):313–9.
44. Nehra A, Gettman MT, Nugent M, Bostwick DG, Barrett DM, Goldstein I, Krane RJ, Moreland RB. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) is sufficient to induce fibrosis of rabbit corpus cavernosum in vivo. *J Urol*. 1999 Sep;162(3 Pt 1):910–5.
45. Araujo AB, et al. Travison TG, Ganz P, Chiu GR, Kupelian V, Rosen RC, Hall SA, McKinlay JB. Erectile dysfunction and mortality. *J Sex Med*. 2009 Sep; 6(9): 2445–54.
46. Böhm M, Baumhäkel M, Koon T et al. Erectile dysfunction predicts cardiovascular events in high-risk patients receiving telmisartan, ramipril or both. *Circulation* 2010; 121: 1439–1446
47. Calabro RS, Polimeni G, Bramanti. Recent advances in the treatment of neurogenic erectile dysfunction. *Recent Pat CNS Drug Discov*. 2014 Apr;9(1):41–53.
48. Steers WD. Neural pathways and central sites involved in penile erection: Neuroanatomy and clinical implications. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24:507–16.
49. Sachs BD. Placing erection in context: the reflexogenic-psychogenic dichotomy reconsidered. *Neurosci Biobehav Rev* 1995; 19: 211–24.
50. Guiliano F, Rampin O, Neural control of erection. *Physiol Behav* 2004; 83: 189–201.
51. Alves M, Conceicao I, Luis ML. Neurophysiological evaluation of sexual dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy Portuguese type. *Acta Neurol Scand* 1997; 96: 163–66
52. Burk K, Weiss A. Impotence after recovery from Guillain Barre Syndrome. *N J Med* 1998; 95: 31–4
53. Lundberg P, Erketin C, Ghezzi A, Swash M, Vodusek D. Neurosexology. *Eur J Neurol* 2001; 8 (supp 3):2–24.

54. Safarinejad MR. The effects of the adjunctive bupropion on male sexual dysfunction induced by a selective serotonin reuptake inhibitor: a doubleblind placebocontrolled and randomized study. *BJU Int* 2010; 106:840.
55. Jardin A, Wagner G, Khoury S, et al. Recommendations of the 1st International Consultation on Erectile Dysfunction. Plymouth, UK: Health publication, Ltd;2000: 711-26.
56. Esposito K, Giugliano F, Di Palo C, et al. Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291:2978.
57. Gupta BP, Murad MH, Clifton MM, et al. The effect of lifestyle modification and cardiovascular risk factor reduction on erectile dysfunction: a systematic review and metaanalysis. *Arch Intern Med* 2011;171:1797.
58. Simon RM, Howard L, Zapata D, et al. The association of exercise with both erectile and sexual function in black and white men. *J Sex Med* 2015; 12:1202.
59. Reis LO, Favaro WJ, Barreiro GC, et al. Erectile dysfunction and hormonal imbalance in morbidly obese male is reversed after gastric bypass surgery: a prospective randomized controlled trial. *Int J Androl* 2010; 33:736.
60. Taskin U, Yigit O, Acioglu E, et al. Erectile dysfunction in severe sleep apnea patients and response to CPAP. *Int J Impot Res* 2010; 22:134.
61. Budweiser S, Luigart R, Jörres RA, et al. Longterm changes of sexual function in men with obstructive sleep apnea after initiation of continuous positive airway pressure. *J Sex Med* 2013; 10:524.
62. Hoekema A, Stel AL, Stegenga B, et al. Sexual function and obstructive sleep apneahypopnea: a randomized clinical trial evaluating the effects of oralappliance and continuous positive airway pressure therapy. *J Sex Med* 2007; 4:1153.
63. Knapp A, Myhill PC, Davis WA, et al. Effect of continuous positive airway pressure therapy on sexual function and serum testosterone in males with type 2 diabetes and obstructive sleep apnoea. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81:254.
64. Wu C, Zhang H, Gao Y, et al. The association of smoking and erectile dysfunction: results from the Fangchenggang Area Male Health and Examination Survey (FAMHES). *J Androl* 2012; 33:59.
65. Pourmand G, Alidaee MR, Rasuli S, et al. Do cigarette smokers with erectile dysfunction benefit from stopping?: a prospective study. *BJU Int* 2004; 94:1310.

66. Fink HA, Mac Donald R, Rutks IR, et al. Sildenafil for male erectile dysfunction: a systematic review and metaanalysis. *Arch Intern Med* 2002; 162:1349.
67. Rendell MS, Rajfer J, Wicker PA, Smith MD. Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a randomized controlled trial. Sildenafil Diabetes Study Group. *JAMA* 1999; 281:421.
68. Schover LR, Fouladi RT, Warneke CL, et al. The use of treatments for erectile dysfunction among survivors of prostate carcinoma. *Cancer* 2002; 95:2397.
69. Zippe CD, Kedia AW, Kedia K, et al. Treatment of erectile dysfunction after radical prostatectomy with sildenafil citrate (Viagra). *Urology* 1998; 52:963.
70. Vardenafil (levitra) for erectile dysfunction. *Med Lett Drugs Ther* 2003; 45:77.
71. Porst H, Rosen R, Padmanathan H, et al. The efficacy and tolerability of vardenafil, a new, oral, selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in patients with erectile dysfunction: the first at home clinical trial. *Int J Impot Res* 2001; 13:192.
72. Klotz T, Sachse R, Heidrich A, et al. Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in erectile dysfunction patients: a RigiScan and pharmacokinetic study. *World J Urol* 2001; 19:32.
73. Hellstrom WJ, Gittelman M, Karlin G, et al. Sustained efficacy and tolerability of vardenafil, a highly potent selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in men with erectile dysfunction: results of a randomized, doubleblind, 26week placebocontrolled pivotal trial. *Urology* 2003; 61:8.
74. Goldstein I, Young JM, Fischer J, et al. Vardenafil, a new phosphodiesterase type 5 inhibitor, in the treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a multicenter doubleblind placebocontrolled fixeddose study. *Diabetes Care* 2003; 26:777.
75. Brock G, Nehra A, Lipshultz LI, et al. Safety and efficacy of vardenafil for the treatment of men with erectile dysfunction after radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 2003; 170:1278.
76. Porst H, Padmanathan H, Giuliano F, et al. Efficacy of tadalafil for the treatment of erectile dysfunction at 24 and 36 hours after dosing: a randomized controlled trial. *Urology* 2003; 62:121.
77. Porst H. IC351 (tadalafil, Cialis): update on clinical experience. *Int J Impot Res* 2002; 14 Suppl 1:S57.
78. Shabsigh R, Seftel AD, Kim ED, et al. Efficacy and safety of oncedaily tadalafil in men with erectile dysfunction who reported no successful intercourse attempts at baseline. *J Sex Med* 2013; 10:844.

79. Limin M, Johnsen N, Hellstrom WJ. Avanafil, a new rapidonset phosphodiesterase 5 inhibitor for the treatment of erectile dysfunction. *Expert Opin Investig Drugs* 2010; 19:1427.
80. Derouet H, Caspari D, Rohde V, et al. Treatment of erectile dysfunction with external vacuum devices. *Andrologia* 1999; 31 Suppl 1:89.
81. Canguven O, Bailen J, Fredriksson W, et al. Combination of vacuum erection device and PDE5 inhibitors as salvage therapy in PDE5 inhibitor nonresponders with erectile dysfunction. *J Sex Med* 2009; 6:2561.
82. Govier FE, McClure RD, Weissman RM, et al. Experience with tripledrug therapy in a pharmacological erection program. *J Urol* 1993; 150:1822.
83. Shenfeld O, Hanani J, Shalhav A, et al. Papaverinephentolamine and prostaglandin E1 versus papaverinephentolamine alone for intracorporeal injection therapy: a clinical doubleblind study. *J Urol* 1995; 154:1017.
84. Hanchanale V, Eardley I. Alprostadil for the treatment of impotence. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(3):421-428.
85. Padma-Nathan H, Hellstrom WJ, Kaiser FE, et al. Treatment of men with erectile dysfunction with transurethral alprostadil. Medicated Urethral System for Erection (MUSE) Study Group. *N Engl J Med* 1997; 336:1.
86. Becher E. Topical alprostadil cream for the treatment of erectile dysfunction. *Expert Opin Pharmacother.* 2004;5(3):623-632.
87. Magheli A, Burnett AL. Erectile dysfunction following prostatectomy: prevention and treatment. *Nat Rev Urol.* 2009;6(8): 415-427.
88. Wolka AM, Rytting JH, Reed BL, Finnin BC. The interaction of the penetration enhancer DDAIP with a phospholipid model membrane. *Int J Pharm.* 2004;271(1-2):5-10.
89. Padma-Nathan H, Steidle C, Salem S, Tayse N, Yeager J, Harning R. The efficacy and safety of a topical alprostadil cream, Alprox-TD, for the treatment of erectile dysfunction: two phase 2 studies in mild-to-moderate and severe ED. *Int J Impot Res.* 2003;15(1):10-17.
90. Steidle C, Padma-Nathan H, Salem S, et al. Topical alprostadil cream for the treatment of erectile dysfunction: a combined analysis of the phase II program. *Urology.* 2002;60(6):1077-1082.

91. Padma-Nathan H, Yeager JL. An integrated analysis of alprostadil topical cream for the treatment of erectile dysfunction in 1732 patients. *Urology*. 2006;68(2):386-391.
92. Buvat J, Damaj B, Fernando Y, et al. Significant improvement of erectile function Following treatment with alprostadile cream (Vitaros) in 1651 patients with erectile dysfunction. ESSM. Amsterdam; 2012.
93. Kostis JB, Jackson G, Rosen R, Barret-Connor E, Billups K, Burneo AL et al. Sexual Dysfunction and Cardiac Risk (the Second Princeton Consensus Conference). *Am J Cardiol* 2005; 96:313-321
94. Aranceta, J. Foc, m. Gil, B y Cols: "obesidad y riesgo cardiovascular. Estudio DORICA. Ed. Médica Panamericana. Laboratorios Lacer. 2004.
95. Thompson, I M.; Tangen, CM; Goodman, PJ; Probstfield, JL; Moinpour, CM; Coltman, CA. Erectile Dysfunction and Subsequent Cardiovascular Disease. *JAMA*. 2005; 294:2996-3002.
96. Bacon CG, Hu FB, Giovannucci E, Glasser DB, Mittleman MA, Rimm EB. Association of type and duration of diabetes with erectile dysfunction in a large cohort of men. *Diabetes care*. 2002; 25(8):1458-63.
97. Hatzimouratidis K, Hatzichristou D. Erectile dysfunction and diabetes mellitus. *Insulin*. 2009; 4(2):114-22.
98. Guay A, Jacobson J. The relationship between testosterone levels, the metabolic syndrome (by two criteria), and insulin resistance in a population of men with organic erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2007; 4:1046-55.
99. Fedele D, Coscelli C, Santeusano F, Bortolotti A, Chatenoud L, Colli E, et al. Erectile dysfunction in diabetic subjects in Italy. Gruppo Italiano Studio Deficit Erettile nei Diabetici. *Diabetes Care*. 1998;21(11):1973-7.
100. Fedele D, Coscelli C, Cucinotta D, Forti G, Santeusano F, Viaggi S, et al. Incidence of erectile dysfunction in Italian men with diabetes. *J Urol*. 2001;166(4):1368-71.
101. Grover SA, Lowensteyn I, Kaouache M, Marchand S, Coupal L, DeCarolis E, et al. The prevalence of erectile dysfunction in the primary care setting: importance of risk factors for diabetes and vascular disease. *Arch Intern Med*. 2006;166(2):213-9.
102. Miner M, Seftel AD, Nehra A, Ganz P, Kloner RA, Montorsi P, et al. Prognostic utility of erectile dysfunction for cardiovascular disease in younger men and those with diabetes. *Am Heart J*. 2012;164(1):21-8.

103. Kloner RA. Erectile dysfunction and cardiovascular risk factors. *Urol Clin North Am.* 2005;32(4):397-402
104. Dunsmuir WD, Holmes SA. The aetiology and management of erectile, ejaculatory, and fertility problems in men with diabetes mellitus. *Diabet Med.* 1996;13(8):700-8.
105. Cellek S, Cameron NE, Cotter MA, Muneer A. Pathophysiology of diabetic erectile dysfunction: potential contribution of vasa nervorum and advanced glycation endproducts. *Int J Impot Res.* 2013;25(1):1-6.
106. Saenz de Tejada I, Blanco R, Goldstein I, Azadzo K, de las Morenas A, Krane RJ, et al. Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J Physiol.* 1988;254(3 Pt 2):H459-67.
107. Cartledge JJ, Eardley I, Morrison JF. Nitric oxide-mediated corpus cavernosal smooth muscle relaxation is impaired in ageing and diabetes. *BJU Int.* 2001;87(4):394-401.
108. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation endproducts: a review. *Diabetologia.* 2001;44(2):129-46.
109. Sullivan ME, Dashwood MR, Thompson CS, Muddle JR, Mikhailidis DP, Morgan RJ. Alterations in endothelin B receptor sites in cavernosal tissue of diabetic rabbits: potential relevance to the pathogenesis of erectile dysfunction. *J Urol.* 1997; 158(5):1966-72.
110. Wang H, Eto M, Steers WD, Somlyo AP, Somlyo AV. RhoA-mediated Ca^{2+} sensitization in erectile function. *J Biol Chem.* 2002; 277(34):30614-21.
111. Fukuhara S, Tsujimura A, Okuda H, Yamamoto K, Takao T, Miyagawa Y, Nonomura N, Okuyama A. Vardenafil and resveratrol synergistically enhance the nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway in corpus cavernosal smooth muscle cells and its therapeutic potential for erectile dysfunction in the streptozotocin-induced diabetic rat: Preliminary findings. *J Sex Med* 2011; 8:1061-71.
112. Kamenov ZA. Comparison of the first intake of vardenafil and tadalafil in patients with diabetic neuropathy and diabetic erectile dysfunction. *J Sex Med* 2011; 8:851-64.
113. Schneider T, Gleissner J, Merfort F, Hermanns M, Beneke M, Ulbrich E. Efficacy and safety of vardenafil for the treatment of erectile dysfunction in men with metabolic syndrome: Results of a randomized, placebo-controlled trial. *J Sex Med* 2011; 8:2904-11.
114. Salloum FN, Ockaili RA, Wittkamp M, Marwaha VR, Kukreja RC. Vardenafil: A novel type 5

phosphodiesterase inhibitor reduces myocardial infarct size following ischemia/reperfusion injury via opening of mitochondrial K (ATP) channels in rabbits. *J Mol Cell Cardiol* 2006;40:405–11.

115. Dominguez DC, Lopez R, Torres ML. Proteomics: clinical applications. *Clin Lab Sci* 2007; 20:245–248.
116. Anderson NL, Hofmann JP, Gemmell A, Taylor J. Global approaches to quantitative analysis of gene-expression patterns observed by use of two-dimensional gel electrophoresis. *Clin Chem* 1984; 30, 2031–2036.
117. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; 270: 467–470.
118. Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW. Serial analyses of gene expression. *Science* 1995; 270: 484–487.
119. Tarroux P, Vincens P, Rabilloud T. Hermes: A second generation approach to the automatic analysis of two dimensional electrophoresis gels. *Electrophoresis* 1987; 8: 187–199.
120. Oldgren J, Wallentin L, Grip L, Linder R, Norgaard BL, Siegbahn A. Myocardial damage, inflammation and thrombin inhibition in unstable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2003;24 (1): 86 –93.
121. Collet JP, Montalescot G, Vicaute E, Ankri A, Walylo F, Lesty C et al. Acute release of plasminogen activator inhibitor-1 in ST-segment elevation myocardial infarction predicts mortality. *Circulation* 2003;108 (4):391–4
122. Rodríguez L, Saenz I. Epidemiología y etiopatogenia de la Disfunción Eréctil. En: Saenz de Tejada I, Allona (Eds). Erección y eyaculación y sus trastornos. Madrid: Fomento Salud, 1997; 33–64.
123. Sommer F, Schulze W. Treating erectile dysfunction by endothelial rehabilitation with phosphodiesterase 5 inhibitors. *Wold J Urol* 2005; 23 (6): 385–92.
124. Consensus development conference statement. National Institutes of Health. Impotence. December 7–9, 1992.
125. Capelleri JC, Rosen RC, Smith MD, Avanish M, Osterloth IH. Diagnostic evaluation of the erectile function domain of the international index of erectile function. *Urology* 1999;54:346–51.
126. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force Of European and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). *Arch Mal Coeur Vaiss* 2004;97:1019–30.

127. Mateos-Cáceres PJ, García-Méndez A, López-Farré A, Macaya C, Núñez A, Gómez J. Proteomic analysis of plasma from patients during an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1578-83.
128. López-Farré AJ, Zamorano-León JJ, Segura A, Mateos-Cáceres PJ, Modrego J, Rodríguez-Sierra P, Calatrava L, Tamargo J, Macaya C. Plasma desmoplakin I biomarker of vascular recurrence after ischemic stroke. *J Neurochem* 2012;121:314-25.
129. López Farré A, Riesco A, Espinosa G, Digiuni E, Cernadas MR, Alvarez V, Montón M, Rivas F, Gallego MJ, Egido J. Effect of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells and perfused heart. *Circulation* 1993;88:1166-71.
130. Zhang JC, Donate F, Qi X, Ziats NP, Juarez JC, Mazar AP, Pang YP, McCrae KR. The antiangiogenic activity of cleaved high molecular weight kininogen is mediated through binding to endothelial cell tropomyosin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:12224-9.
131. Hu J, Ljubimova JY, Inoue S, Konda B, Patil R, Ding H, Espinoza A, Wawrowsky KA, Patil C, Ljubimov AV, Black KL. Phosphodiesterase type 5 inhibitors increase Herceptin transport and treatment efficacy in mouse metastatic brain tumor models. *PLoS One*. 2010 Apr 19;5(4):e10108.
132. Martin Morales A, Sanchez Cruz JJ, Sáenz de Tejada I, et al. Prevalence and independent risk factors for Erectile Dysfunction In Spain: Results of EDEM study. *J Urol* 2001;166(2):569-575.
133. Blans MC, Visseren FL, Banga JD, Hoekstra JB, van der Graaf Y, Diepersloot RJ, Bouter KP. Infection induced inflammation is associated with erectile dysfunction in men with diabetes. *Eur J Clin Invest* 2006;36:497-502.
134. Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Exp Biol Med* 2001;226: 377-408.
135. Mizejewski GJ. Biological roles of alpha-fetoprotein during pregnancy and perinatal development. *Exp Biol Med* 2004;229: 439-463.
136. Han SJ, Yoo S, Choi SH, Hwang EH. Actual half-life of alpha- fetoprotein as a prognostic tool in pediatric malignant tumors. *Pediatr Surg Int* 1997;12: 599-602.
137. Walhof CM, Van Sonderen L, Voûte PA, Delemarre JF. Half-life of alpha-fetoprotein in patients with a teratoma, endodermal sinus tumor, or hepatoblastoma. *Pediatr Hematol Oncol* 1988;5: 217-227.
138. Rather LJ. Disturbance of function (functio laesa): the legendary fifth cardinal sign of inflammation, added by Galen to the four cardinal signs of Celsus. *Bull N Y Acad Med* 1971;47: 303-322.

139. Tolleshaug H, Kolset SO, Berg T. The influence of cellular ATP levels on receptor-mediated endocytosis and degradation of asialo-glycoproteins in suspended hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1985;34: 1639-1645.
140. De Boer JP, Creasey AA, Chang A, Abbink JJ, Roem D, et al. Alpha-2-macroglobulin functions as an inhibitor of fibrinolytic, clotting, and neutrophilic proteinases in sepsis: studies using a baboon model. *Infect Immun* 1993;61: 5035-5043.
141. Wu Y, Yu Y, Zhao T, Wang S, Fu Y, Qi Y et al. Interactions of Environmental Factors and APOA1-APOC3-APOA4-APOA5 Gene Cluster Gene Polymorphisms with Metabolic Syndrome. *PLoS One*. 2016 Jan 29;11(1):e0147946
142. Steiner G, Shafrir E. Primary Hyperlipoproteinemias, 1a. Ed; EUA: McGraw-Hill; 1991: 23-74.
143. Naito H, Galen R. Apolipoproteins: biochemistry, physiology and pathophysiology. *Clin Chem* 1985; 25 (3): 1-13.
144. Weisgraber KH, Bersot TP, Mahley RW, Franceschini G and Sirtori CR: A-I milano apoprotein. Isolation and characterization of a cysteine-containing variant of the A-I apoprotein from human high density lipoproteins. *J Clin Invest*, 1980; 66: 901-907
145. Gualandri V, Franceschini G, Sirtori CR, Gianfranceschi G, Orsini GB, Cerrone A and Menotti A: AI Milano apoprotein identification of the complete kindred and evidence of a dominant genetic transmission. *Am J Hum Genet*, 1985; 37: 1083-1097
146. Fredrikson OS, Altrocchi PH, Avioli LV, Goodman S, Goodman HC. Tangier disease. *Ann Int Med* 1961; 55:1016-1031.
147. Fredickson OS. The inheritance of high density lipoprotein deficiency (Tangier disease). *J. Clin Invest* 1964: 43:228-236.
148. Grundy S, Vega G. Role of apolipoprotein levels in clinical practice. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1579-82.
149. Maciejko J, Holmes D, Kottke B et al. Apolipoprotein A-1 as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease. *N Engl J Med* 1983;309 (7): 385-89.
150. Vargas A, Molina D, Raad J, Cardona D. Apoproteínas A y B y perfil lipídico en pacientes con infarto de miocardio. *Act Med Col* 1991; 16(1): 30-8.

151. Vargas A, Raad J, Cardona D, Molina D. Apoproteínas AI y B: valores de referencia para la población de Manizales. *Act Med Col* 1991;16 (4): 182-97.
152. Osborne, J. C., and H. B. Brewer. 1977. The plasma lipoproteins. *Adv. Protein Chem.* 31: 253-337.
153. Nestruck, A. C., G. Suzue, and Y. L. Marcel. 1980. Studies on the polymorphism of human apolipoprotein A-I. *Biochim. Biophys. Acta.* 617: 110-121.
154. Hyka N, Dayer JM, Modoux C, Kohno T, Edwards CK 3rd, Roux-Lombard P, Burger D. Apolipoprotein A-I inhibits the production of interleukin-1 β and tumor necrosis factor α by blocking contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes. *Blood.* 2001.97:2381-9
155. Green PH, Glickman RM, Riley JW, Quinatz E. Human apolipoprotein A-IV. Intestinal origin and distribution in plasma. *J Clin Invest.* 1980 Apr;65(4):911-9.
156. Main, L. A., T. Ohnishi, and S. Yokoyama. Activation of human plasma cholesteryl ester transfer protein by human apolipoprotein A-IV. *Biochim. Biophys. Acta.* 1996.1300: 17-24.
157. Stein, O., Y. Stein, M. Lefevre, and P. S. Roheim. The role of apolipoprotein A-IV in reverse cholesterol transport studied with cultured cells and liposomes derived from an ether analog of phosphatidylcholine. *Biochim. Biophys. Acta.* 1986.878: 7-14.
158. Dvorin, E., N. L. Gorder, D. M. Benson, and A. M. Gotto. Apolipoprotein A-IV: a determinant for binding and uptake of high density lipoproteins by rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 1986.261: 15714-15720.
159. Weinberg, R. B., and C. S. Patton. Binding of human apolipoprotein A-IV to human hepatocellular plasma membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1990.1044: 255-261.
160. Duverger, N., G. Tremp, J. M. Caillaud, F. Emmanuel, G. Castro, J. C. Fruchart, A. Steinmetz, and P. Deneffe. Protection against atherogenesis in mice mediated by human apolipoprotein A-IV. *Science.* 1996. 273: 966-968.
161. Cohen, R. D., L. W. Castellani, J. H. Qiao, B. J. Van Lenten, A. J. Lusis, and K. Reue. Reduced aortic lesions and elevated high density lipoprotein levels in transgenic mice overexpressing mouse apolipoprotein A-IV. *J. Clin. Invest.* 1997. 99: 1906-1916.
162. Tso, C. et al. The Effects of ApoA-I, A-II and A-IV on Endothelium-generation from Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Heart Lung Circ.* 2012. 21; S24.

163. Nilsson J, Tajsharghi H. Beta-tropomyosin mutations alter tropomyosin isoform composition. *Eur J Neurol*. 2008 Jun;15(6):573-8.
164. Hitchcock-DeGregori SE, Greenfield NJ, Singh A. Regulatory mechanisms of striated muscle contraction tropomyosin: Regulator of actin filaments. *Adv Exp Med Biol* 2007;592:87-97.
165. La Vignera S. Increased expression of endothelial-platelet dysfunctional pathway in patients with arterial erectile dysfunction. *Int Angiol* 2011;30:408-14.
166. Esposito K, Ciotola M, Guiliano F, Schisano B, Improta L, Improta MR, Beneduce F, Rispoli M, DeSio M, Guiliano D. Endothelial microparticles correlate with erectile dysfunction in diabetic men. *Int J Imp Res*. 2007;19:161-6.
167. Garrod D, Chidgey M. Desmosome structure, composition and function. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1778(3):572-87.
168. Choi HJ, Gross JC, Pokutta S, Weis WI. Interactions of plakoglobin and beta-catenin with desmosomal cadherins: basis of selective exclusion of alpha- and beta-catenin from desmosomes. *J Biol Chem*. 2009; 284(46):31776-88.
169. Bornslaeger EA, Corcoran CM, Stappenbeck TS, Green KJ. Breaking the connection: displacement of the desmosomal plaque protein desmoplakin from cell-cell interfaces disrupts anchorage of intermediate filament bundles and alters intercellular junction assembly. *J Cell Biol*. 1996; 134(4):985-1001.
170. Stappenbeck TS, Green KJ. The desmoplakin carboxyl terminus coaligns with and specifically disrupts intermediate filament networks when expressed in cultured cells. *J Cell Biol*. 1992; 116(5):1197-209.
171. Choi HJ, Park-Snyder S, Pascoe LT, Green KJ, Weis WI. Structures of two intermediate filament-binding fragments of desmoplakin reveal a unique repeat motif structure. *Nat Struct Biol*. 2002; 9(8):612-20.
172. Armstrong DK, McKenna KE, Purkis PE, Green KJ, Eady RA, Leigh IM, et al. Haploinsufficiency of desmoplakin causes a striate subtype of palmoplantar keratoderma. *Hum Mol Genet*. 1999; 8(1):143-8.
173. Whittock NV, Ashton GH, Dopping-Hepenstal PJ, Gratian MJ, Keane FM, Eady RA, et al. Striate palmoplantar keratoderma resulting from desmoplakin haploinsufficiency. *J Invest Dermatol*. 1999; 113 (6):940-6.

174. Schwarz J, Bierbaum V, Merrin J, Frank T, Hauschild R, Bollenbach T, Tay S, Sixt M, Mehling M. A microfluidic device for measuring cell migration towards substrate-bound and soluble chemokine gradients. *Sci Rep*. 2016; 6:36440.
175. Goodman A, Godman LS, Rall TW, Murad F. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 7ª edición. Buenos Aires. Ed Panamericana. 1988:1290-91.
176. Villaverde CA. El fibrinógeno como factor de riesgo cardiovascular. Incidencia de los fibratos. *Cardiovascular Risk Factors* 1994;3 (Supl 2):30-45.
177. Ernst E. Fibrinogen: an important risk factor for atherothrombotic diseases. *Ann Med* 1994;26:15-22.
178. Baumanh H, Richards C, Gauldie J. Interaction among hepatocyte-stimulating factors, interleukin 1, and glucocorticoids for regulation of acute phase plasma proteins in human hepatoma (HepG2) cells. *J Immunology* 1987;139:4122-8.
179. Birch HE, Schreiber G. Transcriptional regulation of plasma protein synthesis during inflammation. *J Biol Chem* 1986;261:8077-80.
180. McDonald L, Edgill M. Coagulability of the blood in ischaemic heart disease. *Lancet* 1957;2:457-60.
181. Losner S, Volk BW, Wilensky ND. Fibrinogen concentration in acute myocardial infarction. *Arch Intern Med* 1954;93:231-8.
182. Baker IA, Sweetnam PM, Yarnell JWG, Bainton D, Elwood PC. Haemostatic and other risk factors for ischaemic heart disease and social class: Evidence from Caerphilly and Speedwell Studies. *Int J Epidemiol* 1988;17:759-65.
183. Balleisen L, Schlute H, Assmann G, Epping PH, Van de Loo J. Coagulation factors and the progress of coronary heart disease. *Lancet*. 1987 Aug 22;2 8556-461.
184. Cremer P, Nagel D, Böttcher D, Seidel H, Van de Loo J. Epidemiological study on factor VII factor VIII and fibrinogen in an industrial population I. *Thromb Haemostas* 1985;54:475-6.
185. Who Monica. Project principal investigators (prepared by Tunstall H): The World Health Organisation MONICA Project (Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease):major international collaboration. *J Clin Epidemiol* 1988;41:105-14.
186. Lee AJ, Lowe GDO, Woodward M, Tunstallpedoe H. Fibrinogen in relation to personal history of prevalent hypertension, diabetes, stroke, intermittent, claudication, coronary heart disease, and family history: the Scottish Heart Health Study. *Br Heart J* 1993;69:338-41.

187. Alonso-Orgaz S, Moreno L, Macaya C, Rico L, Mateos-Cáceres P et al. Proteomic study of plasma from moderate hypercholesterolemic patients. *J. Proteome Res.* 2006;5:2301-8.
188. Lovely RS, Falls LA, Al-Mondhiry HA, Chambers CE, Sexton GJ, Ni H, et al. Association of $\gamma A/\gamma'$ fibrinogen levels and coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2002;88:26-31.
189. Drouet L, Paolucci F, Pasqualini N, Laprade M, Ripoll L, Mazoyer E, et al. Plasma γ'/γ fibrinogen ratio, a marker of arterial thrombotic activity: A new potential cardiovascular risk factor? *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10(S1):128.
190. Mannila MN, Lovely RS, Kazmierczak SC, Eriksson P, Samnegård A, Farrell DH, et al. Elevated plasma fibrinogen γ' concentration is associated with myocardial infarction: Effects of variation in fibrinogen genes and environmental factors. *J Thromb Haemost* 2007;5:766-73.
191. Cheung EY, Vos HL, Kruip MJ, den Hertog HM, Jukema JW, de Maat MP. Elevated fibrinogen γ' ratio is associated with cardiovascular diseases and acute phase reaction but not with clinical outcome. *Blood* 2009;114:4603-4.
192. Cheung EY, de Willige SU, Vos HL, Leebeek FW, Dippel DW, Bertina RM, et al. Fibrinogen γ' in ischemic stroke: A case-control study. *Stroke* 2008;39:1033-5.
193. Alexander KS, Madden TE, Farrell DH. Association between γ' fibrinogen levels and inflammation. *Thromb Haemost* 2011;105:605-9.
194. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2129-38.
195. Churg A, et al. (2001) Alpha-1-antitrypsin and a broad spectrum metalloprotease inhibitor, RS113456, have similar acute anti-inflammatory effects. *Lab Invest* 81:1119-1131.
196. Jie Z, et al. (2003) Protective effects of alpha 1-antitrypsin on acute lung injury in rabbits induced by endotoxin. *Chin Med J (Engl)* 116:1678-1682.
197. Lewis EC, Shapiro L, Bowers OJ, Dinarello CA (2005) Alpha1-antitrypsin monotherapy prolongs islet allograft survival in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:12153-12158.
198. Petrache I, et al. (2006) A novel antiapoptotic role for alpha1-antitrypsin in the prevention of pulmonary emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 173:1222-1228.
199. Zhang B, et al. (2007) Alpha1-antitrypsin protects beta-cells from apoptosis. *Diabetes* 56:1316-1323.

200. Brantly M (2002) Alpha1-antitrypsin: Not just an antiprotease: extending the half-life of a natural anti-inflammatory molecule by conjugation with polyethylene glycol. *Am J Respir Cell Mol Biol* 27:652–654.
201. Lara B. EPOC y déficit de alfa-1-antitripsina. *Arch Bronconeumol*.2010;46 Supl 4:2-8
202. Tilg H, et al. Antiinflammatory properties of hepatic acute phase proteins: preferential induction of interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist over IL-1 beta synthesis by human peripheral blood mononuclear cells. *J Exp Med*. 1993;178:1629–36.
203. Lewis EC, et al. Alpha1-antitrypsin monotherapy prolongs islet allograft survival in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:12153–8.
204. Lewis EC, et al. Alpha1-antitrypsin monotherapy induces immune tolerance during islet allograft transplantation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:16236–41.
205. Churg A, et al. Alpha-1-antitrypsin and a broad spectrum metalloprotease inhibitor, RS113456, have similar acute anti-inflammatory effects. *Lab Invest*. 2001;81:1119–31.
206. Subramaniam D, et al. Effects of alpha 1-antitrypsin on endotoxin-induced lung inflammation in vivo. *Inflamm Res*. 2010;59:571–8.
207. Nita IM, Serapinas D, Janciauskiene SM. Alpha1-antitrypsin regulates CD14 expression and soluble CD14 levels in human monocytes in vitro. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39:1165–76.
208. Subramaniam D, et al. Cholesterol rich lipid raft microdomains are gateway for acute phase protein, SERPINA1. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42:1562–70.
209. Bergin DA, et al. Alpha-1 antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J Clin Invest*. 2010;120:4236–50.
210. Grimstein C, et al. Alpha-1 antitrypsin protein and gene therapies decrease autoimmunity and delay arthritis development in mouse model. *J. Transl. Med*. 2011;9:21.
211. Subramanian S, Shahaf G, Ozeri E, et al. Sustained expression of circulating human alpha-1 antitrypsin reduces inflammation, increases CD4+FoxP3+ Treg cell population and prevents signs of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Metab Brain Dis*. 2011;26:107–13.
212. Lacki JK, et al. IgA-alpha-1-antitrypsin complex in systemic lupus erythematosus: preliminary report. *Lupus*. 1995;4:221–4.

213. Zhang XH, et al. Changes of neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in systemic lupus erythematosus. *Proc Chin Acad Med Sci Peking Union Med Coll.* 1989;4:26–9.
214. Gambichler T, et al. Complex extra- intestinal complications of ulcerative colitis in a patient with alpha1-antitrypsin deficiency. *Eur J Med Res.* 2006;11:135–8.
215. Yang P, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency and inflammatory bowel diseases. *Mayo Clin Proc.* 2000;75:450–5.
216. Elzouki AN, et al. The prevalence and clinical significance of alpha 1-antitrypsin deficiency (PiZ) and ANCA specificities (proteinase 3, BPI) in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 1999;5:246–52.
217. Lolin YI, Ward AM. Alpha-1-antitrypsin phenotypes and associated disease patterns in neurological patients. *Acta Neurol Scand.* 1995;91:394–8.
218. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH: Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol* 2008, 8:685–698.
219. Rigby WF, Yirinec B, Oldershaw RL, Fanger MW: Comparison of the effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on T lymphocyte subpopulations. *Eur J Immunol* 1987, 17:563–566.
220. Reichel H, Koeffler HP, Tobler A, Norman AW: 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits gamma-interferon synthesis by normal human peripheral blood lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, 84:3385–3389.
221. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, Walker LS, Lammas DA, Raza K, Sansom DM: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol* 2009, 183:5458–5467.
222. Thien R, Baier K, Pietschmann P, Peterlik M, Willheim M: Interactions of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 with IL-12 and IL-4 on cytokine expression of human T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2005, 116:683–689.
223. Van Etten E, Mathieu C: Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005, 97:93–101.
224. Palmer MT, Lee YK, Maynard CL, Oliver JR, Bikle DD, Jetten AM, Weaver CT: Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem* 2011, 286:997–1004.

225. Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, Gaffen SL, Liu H, Rohowsky-Kochan C, Ichiyama K, Yoshimura A, Steinman L, Christakos S, Youssef S: 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol* 2011, 31:3653–3669.
226. Urry Z, Chambers ES, Xystrakis E, Dimeloe S, Richards DF, Gabrysova L, Christensen J, Gupta A, Saglani S, Bush A, O'Garra A, Brown Z, Hawrylowicz CM: The role of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines in the promotion of distinct Foxp3+ and IL-10+ CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2012, 42:2697–2708.
227. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM: Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001, 358:1500–1503.
228. Amital H, Szekanecz Z, Szucs G, Danko K, Nagy E, Csepany T, Kiss E, Rovensky J, Tuchynova A, Kozakova D, Doria A, Corocher N, Agmon-Levin N, Barak V, Orbach H, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y: Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis* 2010, 69:1155–1157.
229. Ascherio A, Munger KL, Simon KC: Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2010, 9:599–612.
230. Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle JC: Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 2013, 6:81–116.
231. Bikle DD, Siiteri PK, Ryzen E, Haddad JG: Serum protein binding of 1,25-dihydroxyvitamin D: a reevaluation by direct measurement of free metabolite levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 61:969–975.
232. Bikle DD, Gee E, Halloran B, Kowalski MA, Ryzen E, Haddad JG: Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1986, 63:954–959.
233. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, Hollis BW, Gentile M, Haddad JG, Liebhaber SA, Cooke NE: Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999, 103:239–251.
234. Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica Chimica Acta* 2006 372 33–42.
235. Cleve H, Constans J. The mutants of the vitamin-D- binding protein: more than 120 variants of the GC/DBP system. *Vox Sang* 1988;54:215–25.

236. Schaer DJ, Buehler PW. Cell-free hemoglobin and its scavenger proteins: new disease models leading the way to targeted therapies. *Cold Spring Harb Perspect Med.* Jun.2013.
237. Belcher JD, Chen C, Nguyen J, Milbauer L, Abdulla F, Alayash AI, Smith A, Nath KA, Hebbel RP, Vercellotti GM. Heme triggers TLR4 signaling leading to endothelial cell activation and vaso-occlusion in murine sickle cell disease. *Blood.* Nov 25.2013
238. Lin S, Zhong Q, Lv F-L, Zhou Y, Li J-Q, Wang J-Z, Yang Q-W, Yin Q. Heme activates TLR4-mediated inflammatory injury via MyD88/TRIF signaling pathway in intracerebral hemorrhage. *Journal of Neuroinflammation.* 2012; 9(1):46.
239. Piazza M, Damore G, Costa B, Gioannini T, Weiss J, Peri F. Hemin and a metabolic derivative co-prohemin modulate TLR4 pathway differently through different molecular targets. *Innate Immune.* May 14; 2010 17(3):293–301.
240. Young KC, Hussein SM, Dadiz R, deMello D, Devia C, Hehre D, Suguihara C. Toll-like receptor 4-deficient mice are resistant to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Exp Lung Res.* Mar; 2010 36(2):111–119.
241. D'Armiento, J., Dalal, S. S. and Chada, K., Tissue, temporal and inducible expression pattern of haptoglobin in mice. *Gene* 1997. 195: 19–27.
242. Quaye, I. K., Haptoglobin, inflammation and disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008. 102: 735–742.
243. Oliviero, S. and Cortese, R., The human haptoglobin gene promoter: interleukin-6-responsive elements interact with a DNA-binding protein induced by interleukin-6. *EMBO J.* 1989. 8: 1145–1151.
244. Rossbacher, J., Wagner, L. and Pasternack, M. S., Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity. *Scand. J. Immunol.* 1999. 50: 399–404.
245. Arredouani, M. S., Kasran, A., Vanoirbeek, J. A., Berger, F. G., Baumann, H. and Ceuppens, J. L., Haptoglobin dampens endotoxin-induced inflammatory effects both in vitro and in vivo. *Immunology* 2005. 114: 263–271.
246. Nielsen, M. J., Moestrup, S. K., Receptor-targeting of hemoglobin mediated by the haptoglobins: roles beyond heme scavenging. *Blood* 2009. 114: 764–771.
247. Huntoon, K. M., Wang, Y., Eppolito, C. A., Barbour, K. W., Berger, F. G., Shrikant, P. A. and Baumann, H., The acute phase protein haptoglobin regulates host immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2008. 84: 170–181.

248. García-Cardoso J, Vela R, Mahillo E, Mateos-Cáceres PJ, Modrego J, Macaya C. Increased cyclic guanosine monophosphate production and endothelial nitric oxide synthase level in mononuclear cells from sildenafil citrate treated patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 2010;22:68-76.
249. Roumeguère T, Zouaoui Boudjeltia K, Hauzeur C, Ramal A, Shulman C. Decrease ApoB/ApoA-1 ratio and cardiovascular risk improvement: A tadalafil pleiotropic effect? Preliminary study con healthy volunteers. *Prog Urol* 2008;18:1087-91.
250. Ahluwalia A, Foster P, Scotland RS, McLean PG, Mathur A, Perretti M. Antiinflammatory activity of soluble guanylate cyclase: cGMP-dependent down-regulation of P-selectin expression and leukocyte recruitment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:1386-91.
251. Mateos-Cáceres PJ, Garcia-Cardoso J, Lapuente L, Zamorano-León JJ, Sacristán D, de Prada TP, Calahorra J, Macaya C, Vela-Navarrete R, López-Farré AJ. Soluble guanylate cyclase beta1-subunit expression is increased in mononuclear cells from patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 2006;18:432-7.
252. Lin CS, Lin G, Xin ZC, Lue TF. Expression, distribution and regulation of phosphodiesterase 5. *Curr Pharm Des* 2006;12:3439-57.
253. Buechler WA, Nakane M, Murad F. Expression of soluble guanylate cyclase activity requires both enzyme subunits. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;174:351-7.
254. Courtois E, Marques M, Barrientos A, Casado S, López-Farré A. Lead-induced downregulation of soluble guanylate cyclase in isolated rat aortic segments mediated by reactive oxygen species and cyclooxygenase-2. *J Am Soc Nephrol* 2003;14: 1464-70.
255. Liu H, Force T, Bloch KD. Nerve growth factor decreases soluble guanylate cyclase in rat pheochromocytoma PC12 cells. *J Biol Chem* 1997;272:6038-43.
256. Hynes RO. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002;110:673-87.
257. Muthuchamy M, Rethinasamy P, Wieczorek DF. Tropomyosin structure and function new insights. *Trends Cardiovasc Med* 1997;7:124-8.
258. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med.* 1997;48: 489-509.
259. Celermajer DS et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol.* 1994; 24:1468-74.

260. Brunner H et al. Endothelial function and dysfunction. Association with cardiovascular risk factors and diseases. A Statement by the Working Group of Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23:233–46.
261. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990; 81: 491–497.
262. Gazzaruso C, Solerte SB, Pujia A, et al. Erectile dysfunction as a predictor of cardiovascular events and death in diabetic patients with angiographically proven asymptomatic coronary artery disease: a potential protective role for statins and 5-phosphodiesterase inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:2040–4.
263. Salloum FN, Abbate A, Das A, et al. Sildenafil (Viagra) attenuates ischemic cardiomyopathy and improves left ventricular function in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H1398–406.
264. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, et al. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial K(ATP) channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:1263–9.
265. Maas O, Donat U, Frenzel M, et al. Vardenafil protects isolated rat hearts at reperfusion dependent on GC and PKG. *Br J Pharmacol* 2008;154: 25–31.
266. Koneru S, Varma Penumathsa S, Thirunavukkarasu M, et al. Sildenafil-mediated neovascularization and protection against myocardial ischaemia reperfusion injury in rats: role of VEGF/angiopoietin-1. *J Cell Mol Med* 2008;12:2651–64.
267. Elrod JW, Greer JJ, Lefer DJ. Sildenafil-mediated acute cardioprotection is independent of the NO/cGMP pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:342–7.
268. Du Toit EF, Rossouw E, Salie R, et al. Effect of sildenafil on reperfusion function, infarct size, and cyclic nucleotide levels in the isolated rat heart model. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005;19:23–31.
269. Anderson SG, Hutchings DC, Woodward M, Rahimi K, Rutter MK, Kirby M, Hackett G, Trafford AW, Heald AH. Phosphodiesterase type-5 inhibitor use in type 2 diabetes is associated with a reduction in all-cause mortality. *Heart*. 2016;102:1750–1756.

ANEXO I

FICHA TÉCNICA DE VARDENAFILO

I. COMPRIMIDOS RECUBIERTOS CON PELÍCULA

I. Nombre del medicamento

Levitra 5 mg comprimidos recubiertos con película

Levitra 10 mg comprimidos recubiertos con película

Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película

2. Composición cualitativa y cuantitativa

Cada comprimido de 5 mg comprimidos recubiertos con película contiene 5 mg de vardenafilo (como hidrocloreuro).

Cada comprimido de 10 mg comprimidos recubiertos con película contiene 10 mg de vardenafilo (como hidrocloreuro).

Cada comprimido de 20 mg comprimidos recubiertos con película contiene 20 mg de vardenafilo (como hidrocloreuro).

Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección 6.1.

3. Forma farmacéutica

Comprimido recubierto con película.

Levitra 5 mg comprimidos recubiertos con película

Comprimidos redondos de color naranja, con la cruz de BAYER en una cara y un 5 en la otra.

Levitra 10 mg comprimidos recubiertos con película

Comprimidos redondos de color naranja, con la cruz de BAYER en una cara y un 10 en la otra.

Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película

Comprimidos redondos de color naranja, con la cruz de BAYER en una cara y un 20 en la otra.

4. Datos clínicos

4.1 Indicaciones terapéuticas

Tratamiento de la disfunción eréctil en hombres adultos. La disfunción eréctil es la incapacidad para obtener o mantener una erección suficiente para una relación sexual satisfactoria.

Para que Levitra sea efectivo, es necesaria la estimulación sexual.

4.2 Posología y forma de administración

Posología

Uso en hombres adultos

La dosis recomendada es de 10 mg, tomados a demanda, aproximadamente de 25 a 60 minutos antes de la actividad sexual. En base a la eficacia y tolerabilidad, la dosis se pue-

de aumentar a 20 mg o disminuir a 5 mg. La dosis máxima recomendada es de 20 mg. La pauta máxima de dosificación recomendada es de una vez al día. Levitra puede tomarse con o sin alimentos. El inicio de su acción farmacológica puede retrasarse si se toma con una comida con un alto contenido en grasas (ver sección 5.2).

Poblaciones especiales

Pacientes de edad avanzada (>65 años)

No se requiere ajuste de dosis en pacientes de edad avanzada; sin embargo, el aumento a la dosis máxima de 20 mg deberá considerarse con precaución, teniendo en cuenta la tolerabilidad individual (ver secciones 4.4 y 4.8).

Insuficiencia hepática

En pacientes con insuficiencia hepática leve o moderada (Child-Pugh A-B), se debe considerar una dosis inicial de 5 mg. En base a la eficacia y tolerabilidad, la dosis se puede incrementar posteriormente. La dosis máxima recomendada en pacientes con insuficiencia hepática moderada es 10 mg (ver sección 4.3 y sección 5.2).

Insuficiencia renal

No es necesario ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia renal leve o moderada. En pacientes con insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <30 ml/min) debe considerarse una dosis inicial de 5 mg. En base a la eficacia y tolerabilidad, la dosis se puede incrementar a 10 mg y 20 mg.

Población pediátrica

Levitra no está indicado en menores de 18 años de edad. No existe indicación relevante para el uso de Levitra en niños y adolescentes.

Uso en pacientes en tratamiento con otros medicamentos

Uso concomitante de inhibidores moderados o potentes del CYP3A4

Cuando se utilice en combinación con eritromicina o claritromicina, inhibidores del CYP3A4, la dosis de vardenafilo no debe exceder los 5 mg (ver sección 4.5).

Forma de administración

Administración por vía oral.

4.3 Contraindicaciones

Hipersensibilidad al principio activo o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 6.1.

La administración concomitante de vardenafilo con nitratos o con los que liberan óxido nítrico (como el nitrito de amilo) en cualquiera de sus formas está contraindicada (ver sección 4.5 y sección 5.1).

Levitra está contraindicado en pacientes que han perdido la visión en un ojo por haber sufrido un episodio de neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica (NOAI-NA), independientemente de si este episodio estuvo relacionado o no con la toma de un inhibidor de la fosfodiesterasa 5 (PDE5) (ver sección 4.4).

No deben utilizarse medicamentos para el tratamiento de la disfunción eréctil en hombres para los que no es recomendable la actividad sexual (por ejemplo, pacientes con enfermedades cardiovasculares graves, como angina de pecho inestable, o con insuficiencia cardíaca grave [New York Heart Association III ó IV]).

No se ha estudiado la seguridad de vardenafilo en los siguientes subgrupos de pacientes y por lo tanto, hasta que se disponga de información adicional, su uso está contraindicado en:

- insuficiencia hepática grave (Child-Pugh C),
- insuficiencia renal terminal que requiera diálisis,
- hipotensión (presión arterial <90/50 mmHg),
- historia reciente de accidente isquémico cerebral o infarto de miocardio (en los últimos 6 meses),
- angina de pecho inestable y enfermedades hereditarias degenerativas de la retina conocidas, tales como retinitis pigmentosa.

Está contraindicado el uso concomitante de vardenafilo con los inhibidores potentes del CYP3A4 ketoconazol e itraconazol (en su forma oral) en hombres de más de 75 años.

Está contraindicado el uso concomitante de vardenafilo con los inhibidores de la proteasa del VIH, como ritonavir e indinavir, ya que son inhibidores muy potentes del CYP3A4 (ver sección 4.5).

La administración conjunta de inhibidores de la PDE5, incluyendo vardenafilo, con estimuladores de la guanilato ciclasa, como riociguat, está contraindicada ya que puede producir hipotensión sintomática de forma potencial (ver sección 4.5).

4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo

Es recomendable realizar una historia clínica y exploración física para diagnosticar la disfunción eréctil y determinar las causas subyacentes potenciales, antes de considerar el tratamiento farmacológico.

Antes de iniciar cualquier tratamiento de la disfunción eréctil, el médico debe considerar el estado cardiovascular de sus pacientes, ya que existe cierto grado de riesgo cardíaco asociado con la actividad sexual (ver sección 4.3). Vardenafilo tiene propiedades vasodilatadoras que dan lugar a disminuciones leves y transitorias de la presión arterial (ver sección 5.1). Pacientes con obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo, como por ejemplo, estenosis aórtica o estenosis subaórtica hipertrófica idiopática, pueden ser sensibles al efecto de los vasodilatadores, incluyendo los inhibidores de la fosfodiesterasa tipo 5.

Los medicamentos para el tratamiento de la disfunción eréctil se deben utilizar con precaución en pacientes con deformaciones anatómicas del pene (tales como angulación, fibrosis cavernosa o enfermedad de Peyronie) o en pacientes con antecedentes que puedan predisponer a priapismo (tales como anemia falciforme, mieloma múltiple o leucemia).

No se ha estudiado la seguridad y eficacia de la combinación de Levitra comprimidos recubiertos con película y Levitra comprimidos bucodispersables o con otros tratamientos para la disfunción eréctil. Por consiguiente, no se recomienda este tipo de tratamientos combinados.

La tolerabilidad de la dosis máxima de 20 mg puede ser menor en pacientes de edad avanzada (≥ 65 años de edad) (ver secciones 4.2 y 4.8).

Uso concomitante de alfabloqueantes

El uso concomitante de vardenafilo con alfabloqueantes puede producir hipotensión sintomática en algunos pacientes, ya que ambos son vasodilatadores. El tratamiento concomitante con vardenafilo sólo debe iniciarse si el paciente se encuentra estabilizado con su tratamiento alfabloqueante. En los pacientes estabilizados con su tratamiento

alfabloqueante, el tratamiento con vardenafilo deberá iniciarse con la dosis inicial más baja recomendada de 5 mg en comprimidos recubiertos con película. Vardenafilo puede administrarse en cualquier momento con tamsulosina o con alfuzosina. Con los restantes alfabloqueantes, debe considerarse un intervalo de tiempo entre la tomas cuando se prescriba vardenafilo concomitantemente (ver apartado 4.5). En los pacientes que ya toman una dosis optimizada de vardenafilo, el tratamiento con alfabloqueantes deberá iniciarse con la dosis más baja. El incremento progresivo de la dosis del alfabloqueante puede dar lugar a una disminución adicional de la presión arterial en los pacientes que toman vardenafilo.

Uso concomitante de inhibidores del CYP3A4

Debe evitarse la administración conjunta de vardenafilo con inhibidores potentes del CYP3A4 como itraconazol y ketoconazol (forma oral), ya que al combinar estos medicamentos se alcanzan concentraciones plasmáticas muy altas de vardenafilo (ver sección 4.5 y sección 4.3).

Puede ser necesario ajustar la dosis de vardenafilo en caso de administración conjunta con inhibidores moderados del CYP3A4, como por ejemplo, eritromicina o claritromicina (ver sección 4.5 y sección 4.2).

Tomar pomelo o zumo de pomelo con vardenafilo puede dar lugar a concentraciones plasmáticas elevadas del fármaco, por lo que debe evitarse esta combinación (ver sección 4.5).

Efectos en el intervalo QTc

Se ha demostrado que dosis únicas de 10 mg y 80 mg de vardenafilo por vía oral prolongan el intervalo QTc en una media de 8 mseg y 10 mseg, respectivamente. Por otro lado,

la administración concomitante de dosis únicas de 10 mg de vardenafilo con 400 mg de gatifloxacino, una sustancia activa con efecto comparable sobre el intervalo QTc, mostró un efecto aditivo sobre el intervalo QTc de 4 mseg, en comparación con la administración en monoterapia. Se desconoce el impacto clínico de estos cambios en el intervalo QT (ver sección 5.1).

Se desconoce la relevancia clínica de este hallazgo y no puede generalizarse a todo tipo de pacientes en cualquier circunstancia, ya que dependerá de los factores de riesgo y susceptibilidad individual que pueden presentarse en un determinado paciente en un momento dado. Es importante evitar la administración de medicamentos que puedan prolongar el intervalo QTc, como vardenafilo, en pacientes con factores de riesgo importantes, como por ejemplo, hipopotasemia, prolongación congénita del intervalo QT, administración concomitante de medicamentos antiarrítmicos clase IA (por ejemplo, quinidina, procainamida) o clase III (por ejemplo, amiodarona o sotalol).

Efectos en la visión

Se han notificado alteraciones de la visión y casos de neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica (NOAI-NA) relacionados con la toma de Levitra y otros inhibidores de la PDE5. El paciente debe ser advertido de que en caso de notar alteraciones de la visión de forma repentina debe interrumpir el tratamiento con Levitra y consultar inmediatamente con su médico (ver sección 4.3).

Efectos en el sangrado

Estudios in vitro con plaquetas humanas indican que vardenafilo por sí solo no posee efectos antiagregantes. No obstante, a concentraciones altas (supraterapéuticas), vardenafilo potencia el efecto antiagregante del dador de óxido nítrico, nitroprusiato sódico. En humanos, el vardenafilo tomado solo o en asociación con el ácido acetilsalicílico no

afecta el tiempo de hemorragia (ver sección 4.5). No existen datos de seguridad sobre la administración de vardenafilo a pacientes con trastornos hemorrágicos o con úlcera péptica activa. Por lo tanto, vardenafilo sólo debe administrarse a estos pacientes tras una evaluación cuidadosa del beneficio/riesgo.

4.5 Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

Efectos de otros medicamentos sobre vardenafilo

Estudios in vitro

Vardenafilo se metaboliza principalmente por enzimas hepáticas vía citocromo P450 (CYP) isoforma 3A4, con cierta contribución de las isoformas CYP3A5 y CYP2C. Por lo tanto, los inhibidores de estas isoenzimas pueden reducir el aclaramiento de vardenafilo.

Estudios in vivo

La administración concomitante de indinavir (800 mg tres veces al día), un inhibidor de la proteasa del VIH e inhibidor potente del CYP3A4, con vardenafilo (10 mg comprimidos recubiertos con película) produjo un incremento de 16 veces en el AUC de vardenafilo y de 7 veces en la C_{\max} de vardenafilo. A las 24 horas, los niveles plasmáticos de vardenafilo disminuyeron aproximadamente al 4% del nivel plasmático máximo de vardenafilo (C_{\max}).

La administración concomitante de vardenafilo (5 mg) con ritonavir (600 mg dos veces al día) produjo un incremento de 13 veces en la C_{\max} y de 49 veces en el AUC₀₋₂₄ de vardenafilo. La interacción es una consecuencia del bloqueo del metabolismo hepático de vardenafilo por ritonavir, un inhibidor muy potente del CYP3A4, que también inhibe

el CYP2C9. Ritonavir prolongó significativamente la semivida de vardenafilo hasta 25,7 horas (ver sección 4.3).

La administración concomitante de ketoconazol (200 mg), un potente inhibidor del CYP3A4, con vardenafilo (5 mg) produjo un incremento de 10 veces en el AUC de vardenafilo y un incremento de 4 veces en la C_{\max} de vardenafilo (ver sección 4.4).

Aunque no se han realizado estudios de interacción específicos, cabe esperar que el uso concomitante de otros inhibidores potentes del CYP3A4 (tales como itraconazol) produzca niveles plasmáticos de vardenafilo comparables a los producidos por ketoconazol. Debe evitarse el uso concomitante de vardenafilo con inhibidores potentes del CYP3A4, tales como itraconazol y ketoconazol por vía oral (ver sección 4.3 y 4.4). En hombres mayores de 75 años, está contraindicado el uso de vardenafilo con itraconazol y ketoconazol (ver sección 4.3).

La administración concomitante de eritromicina (500 mg tres veces al día), un inhibidor del CYP3A4, con vardenafilo (5 mg) produjo un incremento de 4 veces en el AUC de vardenafilo y un incremento de 3 veces en la C_{\max} . Aunque no se ha realizado un estudio de interacción específico, cabe esperar que la administración concomitante de claritromicina produzca efectos similares en el AUC y C_{\max} de vardenafilo. Cuando se utiliza en combinación con un inhibidor moderado del CYP3A4, como por ejemplo, eritromicina o claritromicina, puede ser necesario un ajuste de la dosis de vardenafilo (ver sección 4.2 y sección 4.4). La cimetidina (400 mg dos veces al día), un inhibidor inespecífico del citocromo P450, no tuvo efecto en el AUC y la C_{\max} al administrarse conjuntamente con vardenafilo (20 mg) a voluntarios sanos.

El zumo de pomelo es un inhibidor débil del metabolismo del CYP3A4 localizado en la pared intestinal; por lo tanto, puede producir pequeños incrementos en los niveles plasmáticos de vardenafilo (ver sección 4.4).

La farmacocinética de vardenafilo (20 mg) no se vio afectada por la administración conjunta con el antagonista H₂, ranitidina (150 mg dos veces al día), digoxina, warfarina, glibenclamida, alcohol (nivel máximo medio de alcohol en sangre de 73 mg/dl) o dosis únicas de antiácidos (hidróxido de magnesio/hidróxido de aluminio).

Aunque no se han realizado estudios de interacción específica con todos los medicamentos posibles, el análisis de los datos farmacocinéticos no mostró ningún efecto sobre la farmacocinética del vardenafilo cuando se administró conjuntamente con los siguientes medicamentos: ácido acetilsalicílico, inhibidores de la ECA, betabloqueadores, inhibidores débiles del CYP3A4, diuréticos y medicamentos para el tratamiento de la diabetes (sulfonilureas y metformina).

Efectos del vardenafilo sobre otros medicamentos

No existen datos sobre la interacción de vardenafilo con inhibidores inespecíficos de la fosfodiesterasa como la teofilina o el dipiridamol.

Estudios in vivo

En un estudio en 18 varones sanos, al administrar vardenafilo (10 mg) a diferentes intervalos de tiempo (entre 1 h y 24 h) antes de una dosis sublingual de nitroglicerina (0.4 mg), no se observó ninguna potenciación del efecto hipotensor de la nitroglicerina. A la dosis de 20 mg en comprimidos recubiertos con película, vardenafilo potenció el efecto hipotensor de la nitroglicerina sublingual (0,4 mg) tomada al cabo de 1 y 4 horas de la administración de vardenafilo en sujetos sanos de mediana edad. No se observó efecto sobre la presión arterial cuando la toma de la nitroglicerina se realizó 24 horas después de una dosis única de 20 mg de vardenafi-

lo en comprimidos recubiertos con película. Sin embargo, no se dispone de información sobre la posible potenciación de los efectos hipotensores de los nitratos por parte de vardenafilo en pacientes, por lo que el tratamiento conjunto está contraindicado (ver sección 4.3).

Nicorandil es un híbrido entre un activador de los canales de potasio y un nitrato. Debido a su componente nitrato, tiene el potencial de presentar una interacción grave con vardenafilo.

Como la monoterapia con alfabloqueantes puede causar un marcado descenso de la presión arterial, especialmente hipotensión postural y síncope, se han realizado estudios de interacción con vardenafilo. En dos estudios de interacción realizados en voluntarios sanos normotensos, tras una titulación forzada de los alfabloqueantes tamsulosina o terazosina a dosis elevadas, se observó hipotensión (sintomática, en algunos casos) en un número significativo de individuos tras la coadministración de vardenafilo. En los individuos tratados con terazosina, la hipotensión se observó con mayor frecuencia cuando vardenafilo y terazosina se habían administrado conjuntamente que cuando estos se habían administrado separados por un intervalo de 6 horas.

En base a los resultados de los estudios de interacción con vardenafilo en pacientes con hiperplasia prostática benigna (HPB) con un tratamiento estable con tamsulosina, terazosina o alfuzosina:

- Cuando se administró vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) a dosis de 5, 10 ó 20 mg durante un tratamiento estable con tamsulosina, no se produjo reducción sintomática de la presión arterial, si bien 3 de 21 individuos tratados con tamsulosina presentaron una presión arterial sistólica transitoria en bipedestación inferior a 85 mmHg.
- Cuando se administró vardenafilo 5 mg, (comprimidos recubiertos con película) simultáneamente con una dosis de 5 mg ó 10 mg de terazosina, uno de 21 pacientes expe-

rimentó hipotensión postural sintomática. No se observó hipotensión cuando entre la administración de vardenafilo 5 mg y de terazosina había transcurrido un intervalo de 6 horas.

- Cuando se administró vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) a dosis de 5 ó 10 mg durante un tratamiento estable con alfuzosina, en comparación con placebo, no se produjo reducción sintomática de la presión arterial.

Por ello, el tratamiento concomitante sólo debe iniciarse si el paciente está estabilizado con su tratamiento alfabloqueante. En los pacientes estabilizados con el tratamiento alfabloqueante, debe iniciarse la administración de vardenafilo con la dosis inicial inferior recomendada de 5 mg. Levitra puede administrarse en cualquier momento con tamsulosina o alfuzosina. Con los restantes alfabloqueantes, debe considerarse una separación temporal entre los dos tratamientos cuando se prescriba vardenafilo concomitantemente (ver sección 4.4).

No se han observado interacciones significativas al administrar warfarina (25 mg), que se metaboliza a través del CYP2C9, o con digoxina (0,375 mg) conjuntamente con vardenafilo (20 mg comprimidos recubiertos con película). La biodisponibilidad relativa de la glibenclamida (3,5 mg) no se vio afectada por la administración conjunta con vardenafilo (20 mg). En un estudio específico en que vardenafilo (20 mg) fue administrado conjuntamente con nifedipino de liberación prolongada (30 mg ó 60 mg) en pacientes hipertensos, se observó una reducción adicional de la presión arterial sistólica en posición supina de 6 mmHg y de la presión arterial diastólica en posición supina de 5 mmHg, acompañadas de un aumento de la frecuencia cardiaca de 4 lpm.

Al administrar conjuntamente vardenafilo (20 mg comprimidos recubiertos con película) y alcohol (nivel máximo medio de alcohol en sangre de 73 mg/dl), no se potenciaron

los efectos del alcohol en la presión arterial y la frecuencia cardíaca, ni tampoco se alteró la farmacocinética de vardenafilo.

Vardenafilo (10 mg) no potenció el alargamiento del tiempo de hemorragia causado por el ácido acetilsalicílico (2 x 81 mg).

Riociguat

Estudios preclínicos mostraron un efecto aditivo de la disminución de la presión arterial sistémica cuando se combinaron inhibidores de la PDE5 con riociguat. Riociguat ha mostrado en ensayos clínicos que aumenta los efectos hipotensores de los inhibidores de la PDE5. En la población estudiada no hubo indicios de un efecto clínico favorable de dicha combinación. El uso concomitante de riociguat con inhibidores de la PDE5, incluyendo vardenafilo, está contraindicado (ver sección 4.3).

4.6 Fertilidad, embarazo y lactancia

El uso de Levitra no está indicado en mujeres. No hay estudios de vardenafilo en mujeres embarazadas.

No hay datos disponibles de los efectos sobre la fertilidad.

4.7 Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas

No se han realizado estudios de los efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas.

En los ensayos clínicos con vardenafilo se informó de mareos y trastornos visuales, por lo tanto, los pacientes deben saber cómo reaccionan a Levitra, antes de conducir o utilizar máquinas.

4.8 Reacciones adversas

Las reacciones adversas comunicadas en estudios clínicos con Levitra comprimidos recubiertos con película o con Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables fueron en general transitorias y de naturaleza leve a moderada. La reacción adversa más frecuentemente notificada y manifiesta en $\geq 10\%$ de los pacientes fue cefalea.

Las reacciones adversas se enumeran según la convención MedDRA sobre frecuencia: muy frecuente ($\geq 1/10$), frecuentes, ($>1/100$ a $<1/10$), poco frecuentes ($>1/1.000$ a $<1/100$), raras ($>1/10.000$ a $<1/1.000$) y frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles).

En cada grupo de frecuencia, las reacciones adversas se presentan en orden de gravedad decreciente. Se han notificado las siguientes reacciones adversas:

Clasificación de órganos del sistema MedDRA	Muy frecuentes ($\geq 1/10$)	Frecuentes ($>1/100$ a $<1/10$)	Poco frecuentes ($>1/1.000$ a $<1/100$)*	Raras ($>1/10.000$ a $<1/1.000$)	No conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Infecciones e infestaciones				Conjuntivitis	
Trastornos del sistema inmunológico			Edema alérgico y angioedema	Reacción alérgica	
Trastornos psiquiátricos			Trastornos del sueño	Ansiedad	
Trastornos del sistema nervioso	Cefalea	Mareos	Somnolencia Parestesia y disestesia	Síncope Convulsiones Amnesia	
Trastornos oculares			Trastornos visuales Hiperemia ocular Cromatopsia Dolor y malestar ocular Fotofobia	Aumento de la presión intraocular Aumento del lagrimeo	Neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica Alteraciones de la visión
Trastornos del oído y del laberinto			Tinnitus Vértigo		Sordera súbita

Clasificación de órganos del sistema MedDRA	Muy frecuentes (≥1/10)	Frecuentes (>1/100 a <1/10)	Poco frecuentes (>1/1.000 a <1/100)*	Raras (>1/10.000 a <1/1.000)	No conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Trastornos cardíacos			Palpitaciones Taquicardia	Infarto de miocardio Taquiarritmia ventricular Angina de pecho	
Trastornos vasculares		Enrojecimiento facial		Hipertensión Hipotensión	
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos		Congestión nasal	Disnea Congestión de los senos	Epistaxis	
Trastornos gastrointestinales		Dispepsia	Reflujo gastroesofágico Gastritis Dolor abdominal o gastrointestinal Diarrea Vómitos Náusea Sequedad de la boca		
Trastornos hepatobiliares			Aumento de las transaminasas	Aumento de la gamma glutamil transferasa	
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo			Eritema Erupción cutánea	Reacción de fotosensibilidad	
Trastornos múscu- loesqueléticos y del tejido conjuntivo			Dolor de espalda Aumento de creatinfosfoquin asa en sangre Mialgia Aumento del tono muscular y calambres		
Trastornos renales y urinarios					Hematuria
Trastornos del aparato reproductor y de la mama			Aumento de las erecciones	Priapismo	Hemorragia peniana Hematospermia
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administra- ción			Sensación de malestar	Dolor torácico	

En los ensayos clínicos y en los programas de notificación espontánea post-comercialización se han notificado casos de hemorragia peniana, hematospermia y hematuria con el uso de inhibidores de la PDE5, incluido vardenafilo.

A la dosis de Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película, los pacientes de edad avanzada (≥ 65 años de edad) presentaron mayor frecuencia de cefalea (16,2% versus 11,8%) y mareo (3,7% versus 0,7%) que los pacientes más jóvenes (< 65 años de edad). En general, la incidencia de reacciones adversas (especialmente la de “mareo”) se ha observado que es ligeramente superior en los pacientes con historia de hipertensión.

Informes post-comercialización con otro fármaco de esta misma clase

Trastornos vasculares:

Se han notificado reacciones cardiovasculares graves en estudios post-comercialización con otro fármaco de la misma clase, estas incluyen: hemorragia cerebrovascular, muerte súbita de origen cardíaco, accidente isquémico transitorio, angina inestable y arritmia ventricular.

Notificación de sospechas de reacciones adversas

Es importante notificar sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización. Ello permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del sistema nacional de notificación incluido en el Anexo V.

4.9 Sobredosis

En estudios realizados en voluntarios con dosis únicas, se toleraron dosis de hasta 80 mg de vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) inclusive sin presentar reacciones adversas graves.

Al administrar vardenafilo a dosis superiores y con mayor frecuencia que la pauta de dosis recomendada (40 mg en comprimidos recubiertos con película dos veces al día), se han registrado casos de dolor de espalda intenso. Esto no se ha asociado a toxicidad muscular o neurológica.

En casos de sobredosis, se deben tomar las medidas normales de apoyo. Dado que vardenafilo se une intensamente a las proteínas plasmáticas y no se elimina de forma significativa por la orina, no se espera que la diálisis renal acelere el aclaramiento del fármaco.

5. Propiedades farmacológicas

5.1 Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: Urológicos. Fármacos utilizados en disfunción eréctil, código ATC: G04BE09.

Vardenafilo es una terapia de administración oral para mejorar la función eréctil en hombres con disfunción eréctil. En condiciones normales, es decir, con estimulación sexual, restaura la función eréctil deteriorada mediante el aumento del flujo sanguíneo al pene.

La erección del pene es un proceso hemodinámico. Durante la estimulación sexual, se libera óxido nítrico, que activa la enzima guanilato-ciclase, lo que da lugar a un aumento del nivel de guanosina monofosfato cíclica (GMPc) en el cuerpo cavernoso. Esto a su vez, produce la relajación del músculo liso, permitiendo una mayor afluencia de sangre al pene. El nivel de GMPc se regula mediante la tasa de síntesis vía guanilatociclase y la tasa de degradación por parte de las fosfodiesterasas hidrolizantes (PDEs).

Vardenafilo es un inhibidor potente y selectivo de la fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5) específica del GMPc, principal PDE en el cuerpo cavernoso humano. Vardenafilo aumenta potentemente el efecto del óxido nítrico endógeno en el cuerpo cavernoso, por inhibición de la PDE5. Cuando se libera óxido nítrico en respuesta a la estimulación sexual, la inhibición de la PDE5 por vardenafilo ocasiona un aumento de los niveles de GMPc en el cuerpo cavernoso. Por lo tanto, es necesario que haya estimulación sexual para que vardenafilo produzca sus efectos terapéuticos beneficiosos.

Los estudios in vitro han demostrado que vardenafilo es más potente sobre la PDE5 que sobre otras fosfodiesterasas conocidas (más de 15 veces en relación con la PDE6, más de 130 veces en relación con la PDE1, más de 300 veces en relación con la PDE11, y más de 1000 veces en relación con las fosfodiesterasas PDE2, PDE3, PDE4, PDE7, PDE8, PDE9 y PDE10).

En un estudio utilizando pletismografía peneana (RigiScan), vardenafilo 20 mg produjo en algunos hombres erecciones consideradas como suficientes para la penetración (60% de rigidez en RigiScan) tan sólo 15 minutos tras la administración. La respuesta global de estos individuos a vardenafilo fue estadísticamente significativa, en comparación con placebo, a los 25 minutos de la dosificación.

Vardenafilo produce una disminución leve y transitoria de la presión arterial que, en la mayoría de casos, no se traducen en efectos clínicos. En comparación con placebo, la disminución máxima media de la presión arterial sistólica en posición supina, tras dosis de 20 mg y 40 mg de vardenafilo fueron de $-6,9$ mmHg (20 mg) y $-4,3$ mmHg (40 mg). Estos efectos concuerdan con los efectos vasodilatadores de los inhibidores de la PDE5 y se deben probablemente al aumento de los niveles de GMPc en las células del músculo liso vascular. Dosis orales únicas y múltiples

de vardenafilo de hasta 40 mg en voluntarios sanos no produjeron cambios clínicamente relevantes en el ECG.

En un ensayo de dosis única, a doble ciego, cruzado y randomizado en 59 hombres sanos, se compararon los efectos de vardenafilo (10 mg y 80 mg), sildenafil (50 mg y 400 mg) y placebo en el intervalo QT. Como control interno activo se incluyó moxifloxacino (400 mg). Se midieron los efectos sobre el intervalo QT una hora después de la dosificación (t_{\max} promedio para vardenafilo). El objetivo principal del estudio era descartar un efecto superior a 10 mseg (es decir, demostrar la ausencia de efecto) en el intervalo QTc de una dosis única de 80 mg de vardenafilo por vía oral, en comparación con placebo. Las determinaciones se llevaron a cabo a partir del cambio en la fórmula de corrección de Fridericia ($QTcF = QT/RR^{1/3}$) una hora después de la dosificación, en relación al valor basal. Los resultados de vardenafilo mostraron un aumento del QTc (Fridericia) de 8 mseg (IC 90%: 6 - 9) y 10 mseg (IC 90%: 8 - 11) con las dosis de 10 mg y 80 mg, en comparación con placebo, así como un aumento en el QTci de 4 mseg (IC 90%: 3 - 6) y 6 mseg (IC90%: 4 - 7) a las dosis de 10 mg y 80 mg, una hora después de la administración, en comparación con placebo. En t_{\max} , el cambio medio en QTcF para vardenafilo 80 mg fue el único valor que estuvo fuera de los límites establecidos por el estudio (valor medio 10 mseg, IC90% (8 - 11)). Al utilizar la fórmula de corrección individual, ninguno de los valores estuvo fuera de los límites.

En un ensayo post-comercialización con 44 voluntarios sanos, se administraron dosis únicas de 10 mg de vardenafilo ó 50 mg de sildenafil de forma concomitante con 400 mg de gatifloxacino, un fármaco con efecto comparable sobre el intervalo QT. Tanto vardenafilo como sildenafil mostraron un aumento de efecto QTc (Fridericia) de 4 mseg (vardenafilo) y 5 mseg (sildenafil) en comparación con el fármaco en monoterapia. Se desconoce el impacto clínico real de estos cambios en el intervalo QT.

Información adicional sobre ensayos clínicos con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables

La eficacia y seguridad de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables se han demostrado individualmente en una amplia población, mediante dos estudios que incluyeron 701 pacientes con disfunción eréctil, randomizados y que fueron tratados durante 12 semanas. La distribución de los pacientes en los subgrupos predefinidos incluyó pacientes de edad avanzada (51%), pacientes con historia de diabetes mellitus (29%), dislipidemia (39%) e hipertensión (40%).

En los datos agrupados de los dos ensayos realizados con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables, las puntuaciones del dominio IIEF-EF fueron significativamente superiores con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables, comparado con placebo.

Un porcentaje del 71% de todas las relaciones sexuales reportados en los ensayos clínicos tuvieron una penetración satisfactoria, en comparación con el 44% de todos los intentos en el grupo placebo. Estos resultados se reflejaron también en los subgrupos, en pacientes de edad avanzada (65%), con antecedentes de diabetes mellitus (63%), pacientes con antecedentes de dislipidemia (66%) e hipertensión (70%) de todos los intentos sexuales declarados comunicaron que la penetración fue satisfactoria.

Alrededor del 63% de todas las relaciones sexuales con 10 mg comprimidos bucodispersables fueron satisfactorias en cuanto al mantenimiento de la erección, en comparación con aproximadamente el 26% de todos los intentos sexuales controlados con placebo. En los subgrupos predefinidos, el 57% (pacientes de edad avanzada), el 56% (pacientes con antecedentes de diabetes mellitus), el 59% (pacientes con antecedentes de dislipidemia) y el 60% (pacientes con antecedentes de hipertensión) de todos los intentos comunica-

dos con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables comprimidos fueron satisfactorios en en cuanto al mantenimiento de la erección.

Información adicional sobre ensayos clínicos

En ensayos clínicos, vardenafilo se administró a más de 17.000 hombres con disfunción eréctil (DE) y edades comprendidas entre 18 y 89 años, muchos de los cuales presentaban múltiples patologías concomitantes. Más de 2.500 pacientes han sido tratados con vardenafilo durante seis meses o más. De ellos, más de 900 pacientes han sido tratados durante un año o más.

Los siguientes grupos de pacientes estuvieron representados: ancianos (22%), pacientes hipertensos (35%), diabetes mellitus (29%), cardiopatía isquémica y otras patologías cardiovasculares (7%), insuficiencia pulmonar crónica (5%), hiperlipidemia (22%), depresión (5%), prostatectomía radical (9%). Los siguientes grupos no estuvieron bien representados en los ensayos clínicos: pacientes ancianos de más de 75 años (2,4%) y pacientes con ciertas patologías cardiovasculares (ver sección 4.3). No se han realizado ensayos clínicos en pacientes con enfermedades del SNC (excepto en pacientes con lesión medular), pacientes con insuficiencia renal o hepática graves, pacientes con cirugía de pelvis (excepto prostatectomía con preservación bilateral de la inervación), pacientes con traumatismo pélvico, pacientes que han sido sometidos a radioterapia, pacientes con deseo sexual hipoactivo o pacientes con deformidad anatómica del pene.

En ensayos principales, comparativos con placebo, el tratamiento con vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) produjo una mejoría de la función eréctil. En el pequeño número de pacientes que intentaron mantener relaciones sexuales hasta las cuatro o cinco horas después de la administración, la tasa de éxito en la penetración y en el mantenimiento de la erección fue siempre mayor que con placebo.

En estudios de dosis fija (comprimidos recubiertos con película) realizados en una amplia población de hombres con disfunción eréctil, un 68% (5 mg), un 76% (10 mg) y un 80% (20 mg) de los pacientes experimentaron penetraciones satisfactorias (SEP 2) en comparación con un 49% de los pacientes con placebo, durante un período de estudio de tres meses. La capacidad de mantener la erección (SEP 3) en esta amplia población con DE se obtuvo en un 53% (5 mg), un 63% (10 mg) y un 65% (20 mg), en comparación con un 29% en los tratados con placebo.

En los datos agrupados a partir de los ensayos de eficacia más importantes, la proporción de pacientes que experimentaron una penetración satisfactoria con vardenafilo fue la siguiente: disfunción eréctil psicógena (77 - 87%), disfunción eréctil mixta (69 - 83%), disfunción eréctil orgánica (64 - 75%), ancianos (52 - 75%), cardiopatía isquémica (70 - 73%), hiperlipidemia (62 - 73%), insuficiencia pulmonar crónica (74 - 78%), depresión (59 - 69%), y pacientes tratados conjuntamente con antihipertensivos (62 - 73%).

En un ensayo clínico comparativo con placebo, realizado en pacientes con diabetes mellitus, dosis de 10 mg y 20 mg de vardenafilo mejoraron significativamente la puntuación de la función eréctil, de la capacidad de obtener y mantener una erección suficientemente prolongada para desarrollar una relación sexual satisfactoria y de la rigidez del pene. Las proporciones de respuesta a la capacidad de obtener y mantener una erección fueron de un 61% y un 49% con 10 mg y de un 64% y un 54% con 20 mg de vardenafilo, en comparación con un 36% y un 23% con placebo, en pacientes que completaron un tratamiento de tres meses.

En un ensayo clínico en pacientes post-prostatectomía, dosis de 10 mg y 20 mg de vardenafilo mejoraron significativamente, en comparación con placebo, la puntuación de la función eréctil, de la capacidad de obtener y mantener una erección suficientemente

prolongada para desarrollar una relación sexual satisfactoria y de la rigidez del pene. Las proporciones de respuesta a la capacidad de obtener y mantener una erección fueron de un 47% y 37% con 10 mg y de 48% y 34% con 20 mg de vardenafilo, en comparación con 22% y 10% con placebo, en pacientes que completaron un tratamiento de tres meses.

En un ensayo clínico con vardenafilo a dosis flexibles comparado con placebo en pacientes con lesión medular, vardenafilo mejoró significativamente la puntuación del dominio función eréctil, la capacidad para obtener y mantener una erección el tiempo suficiente para un acto sexual satisfactorio y la rigidez del pene. El número de pacientes que recuperaron una puntuación normal para el dominio IIEF (>26) fue del 53%, en comparación con el 9% en el grupo placebo. Los índices de respuesta observados para la capacidad de obtener y mantener una erección fueron del 76% y 59% con vardenafilo, en comparación con el 41% y 22% observados con placebo, en los pacientes que completaron los tres meses de tratamiento, los cuales fueron clínicamente y estadísticamente significativos ($p<0,001$).

La seguridad y eficacia de vardenafilo se mantuvo en los estudios a largo plazo.

Población pediátrica

La Agencia Europea de Medicamentos ha eximido al titular de la obligación de presentar los resultados de los ensayos realizados en los diferentes subgrupos de la población pediátrica en el tratamiento de la disfunción eréctil (ver sección 4.2 para consultar la información sobre el uso en la población pediátrica).

5.2 Propiedades farmacocinéticas

Los estudios de bioequivalencia han demostrado que vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables no es bioequivalente con vardenafilo 10 mg comprimidos recubiertos

con película; por consiguiente, la formulación bucodispersable no debe utilizarse como si fuera equivalente a vardenafilo 10 mg comprimidos recubiertos con película.

Absorción

En vardenafilo comprimidos recubiertos con película, vardenafilo se absorbe rápidamente, obteniéndose en algunos hombres concentraciones plasmáticas máximas incluso a los 15 minutos después de la administración oral. Sin embargo, en el 90% de los casos, la concentración plasmática máxima se consigue entre los 30 y los 120 minutos (mediana 60 minutos) después de la administración oral en ayunas. La biodisponibilidad oral absoluta media es del 15%. Tras la administración oral de vardenafilo, el AUC y la C_{\max} aumentaron de forma casi proporcional a la dosis dentro del rango de dosis recomendado (5 – 20 mg).

Al administrar vardenafilo comprimidos recubiertos con película con una comida con un alto contenido en grasas (57% de grasa), la velocidad de absorción se reduce, con un aumento de la mediana del t_{\max} del orden de 1 hora y una reducción media de C_{\max} del 20%. El AUC de vardenafilo no se ve afectado. Tras una comida con un 30% de grasa, la velocidad y el grado de absorción de vardenafilo (t_{\max} , C_{\max} y AUC) se mantienen inalterados en comparación con la administración en ayunas.

Vardenafilo se absorbe rápidamente tras la administración de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables sin agua. La mediana del tiempo para alcanzar una C_{\max} varió entre 45 y 90 minutos y fue similar o ligeramente más lenta (en 8 - 45 minutos) en comparación con los comprimidos recubiertos con película. El AUC media de vardenafilo aumentó en un 21 - 29% (pacientes con DE de edad media y edad avanzada) ó 44% (sujetos jóvenes sanos) con 10 mg en forma de comprimidos bucodispersables en comparación con los comprimidos recubiertos con película, como consecuencia de la

absorción local en la cavidad bucal de una pequeña cantidad de sustancia activa. No se observó una diferencia consistente en la C_{\max} entre los comprimidos bucodispersables y los comprimidos recubiertos con película.

En sujetos que tomaron vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables con una comida con alto contenido en grasas no se observó un efecto sobre el AUC y t_{\max} de vardenafilo, mientras que la C_{\max} se redujo en un 35% tras la comida. En base a estos resultados, vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables pueden tomarse con o sin alimento.

Si vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables se toma con agua, el AUC se reduce en un 29%, la C_{\max} no se modifica y la mediana del t_{\max} se reduce en 60 minutos, en comparación con la toma sin agua. Vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables debe tomarse sin líquido.

Distribución

El volumen medio de distribución en estado de equilibrio para vardenafilo es de 208 l, indicando una distribución tisular del fármaco.

Vardenafilo y su metabolito principal circulante (M1) se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas (aproximadamente en un 95% para vardenafilo o M1). La unión a proteínas por parte de vardenafilo y de M1 es independiente de las concentraciones totales de ambos.

En base a las determinaciones de vardenafilo en el semen de individuos sanos 90 minutos después de la administración, no más del 0.00012% de la dosis administrada puede aparecer en el semen de los pacientes.

Biotransformación

Vardenafilo en comprimidos recubiertos con película se metaboliza predominantemente por metabolismo hepático a través del citocromo P450 isoforma (CYP) 3A4, con una cierta contribución de las isoformas CYP3A5 y CYP2C.

En humanos, el metabolito circulante principal (M1) resulta de la desetilación de vardenafilo y está sometido a un posterior metabolismo con una semivida de eliminación plasmática de aproximadamente 4 horas. Partes del M1 se encuentran en forma de glucurónido en la circulación sistémica. El metabolito M1 muestra un perfil de selectividad de fosfodiesterasa similar al vardenafilo y una potencia in vitro para la fosfodiesterasa tipo 5 de aproximadamente un 28%, en comparación con vardenafilo, resultando en una contribución en la eficacia del 7%, aproximadamente.

La media de la semivida terminal de vardenafilo en pacientes que han tomado vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables osciló entre las 4 - 6 horas. La semivida de eliminación del metabolito M1 oscila entre las 3 y las 5 horas, al igual que la de vardenafilo.

Eliminación

El aclaramiento total de vardenafilo es de 56 l/h, con una semivida terminal resultante de 4 - 5 horas, aproximadamente. Tras la administración oral, vardenafilo se excreta en forma de metabolito predominantemente en heces (aproximadamente el 91 - 95% de la dosis administrada) y en menor medida en orina (aproximadamente el 2 - 6% de la dosis administrada).

Farmacocinética en grupos especiales de pacientes

Pacientes de edad avanzada

El aclaramiento hepático de vardenafilo en voluntarios de edad avanzada sanos (mayores de 65 años) se vio reducido, en comparación con voluntarios sanos más jóvenes (18 - 45

años). Por término medio, los pacientes ancianos que tomaban vardenafilo comprimidos recubiertos con película presentaron un aumento del AUC y C_{\max} del 52% y 34%, respectivamente, en comparación con los voluntarios jóvenes (ver sección 4.2).

El AUC y C_{\max} en pacientes de edad avanzada (a partir de 65 años) que tomaron vardenafilo comprimidos bucodispersables aumentaron en un 31 - 39% y en un 16 - 21%, respectivamente, en comparación con los pacientes de 45 años de edad y edades inferiores. Vardenafilo no se acumuló en el plasma de los pacientes de 45 años de edad y edades inferiores ni tampoco en aquellos con 65 años o más, tras la administración de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables una vez al día durante 10 días.

Insuficiencia renal

En voluntarios con insuficiencia renal de leve a moderada (aclaramiento de creatinina 30 - 80 ml/min), la farmacocinética de vardenafilo fue similar a la registrada en un grupo control con una función renal normal. En voluntarios con insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <30 ml/min) el valor medio del AUC aumentó un 21% y el valor medio de la C_{\max} disminuyó en un 23%, en comparación con voluntarios sin insuficiencia renal. No se observó una correlación estadísticamente significativa entre el aclaramiento de creatinina y la exposición a vardenafilo (AUC y C_{\max}). No se ha estudiado la farmacocinética de vardenafilo en pacientes sometidos a diálisis (ver sección 4.3).

Insuficiencia hepática

En pacientes con insuficiencia hepática leve o moderada (Child-Pugh A y B), el aclaramiento de vardenafilo se redujo de forma proporcional al grado de insuficiencia hepática. En pacientes con insuficiencia hepática leve (Child-Pugh A), los valores medios de AUC y C_{\max} aumentaron un 17% y 22%, respectivamente, en comparación con

los individuos de control sanos. En pacientes con insuficiencia moderada (Child-Pugh B), los valores de AUC y C_{\max} aumentaron un 160% y 133%, respectivamente, en comparación con los individuos de control sanos. No se ha estudiado la farmacocinética de vardenafilo en pacientes con insuficiencia hepática grave (Child-Pugh C) (ver sección 4.3).

5.3 Datos preclínicos sobre seguridad

Los datos de los estudios no clínicos no muestran riesgos especiales para los seres humanos, según los estudios convencionales de seguridad farmacológica, toxicidad a dosis repetidas, genotoxicidad, potencial carcinogénico, toxicidad para la reproducción.

6. Datos farmacéuticos

6.1 Lista de excipientes

Núcleo del comprimido:

Crospovidona.

Estearato de magnesio.

Celulosa microcristalina.

Sílice coloidal anhidra.

Cubierta pelicular:

Macrogol 400.

Hipromelosa.

Dióxido de titanio (E171).

Óxido de hierro amarillo (E172).

Óxido de hierro rojo (E172).

6.2 Incompatibilidades

No procede.

6.3 Período de validez

3 años.

6.4 Precauciones especiales de conservación

Este medicamento no requiere condiciones especiales de conservación.

6.5 Naturaleza y contenido del envase

Blísters de PP/aluminio en envases de 2, 4, 8, 12 y 20 comprimidos. Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envases.

6.6 Precauciones especiales de eliminación

Ninguna especial para su eliminación.

7. Titular de la autorización de comercialización

Bayer Pharma AG, 13342 Berlin, Alemania

8. Número(s) de autorización de comercialización

EU/1/03/248/001-004, 021

EU/1/03/248/005-008, 022

EU/1/03/248/009-012, 023

9. Fecha de la primera autorización/renovación de la autorización

Fecha de la primera autorización: 6 de marzo de 2003

Fecha de la última renovación: 6 de marzo de 2008

10. Fecha de la revisión del texto

La información detallada de este medicamento está disponible en la página web de la Agencia Europea de Medicamentos <http://www.ema.europa.eu>

2. COMPRIMIDOS BUCODISPERSABLES

1. Medicamento

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables.

2. Composición cualitativa y cuantitativa

Cada comprimido bucodispersable contiene 10 mg de vardenafilo (como hidrocloreuro).

Excipientes:

7,96 mg sorbitol (E420) y 1,80 mg aspartamo (E951) por comprimido bucodispersable.

Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección 6.1.

3. Forma farmacéutica

Comprimido bucodispersable. Comprimidos redondos de color blanco.

4. Datos clínicos

4.1 Indicaciones terapéuticas

Tratamiento de la disfunción eréctil en hombres adultos. La disfunción eréctil es la incapacidad para obtener o mantener una erección suficiente para una relación sexual satisfactoria.

Para que Levitra sea efectivo, es necesaria la estimulación sexual.

4.2 Posología y forma de administración

Posología

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables no es bioequivalente a Levitra 10 mg comprimidos recubiertos con película (ver sección 5.1). La dosis máxima para Levitra comprimidos bucodispersables es 10 mg/día.

Uso en hombres adultos

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables se toman a demanda, aproximadamente de 25 a 60 minutos antes de la actividad sexual.

Poblaciones especiales

Pacientes de edad avanzada (>65 años)

No se requiere ajuste de dosis en pacientes de edad avanzada. Sin embargo, el aumento a la dosis máxima de Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película deberá considerarse con precaución, teniendo en cuenta la tolerabilidad individual (ver secciones 4.4 y 4.8)

Insuficiencia hepática

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables no está indicado como dosis de inicio en pacientes con insuficiencia hepática leve (Child-Pugh A).

Los pacientes con insuficiencia hepática leve deben iniciar tratamiento con Levitra 5 mg comprimidos recubiertos con película. En base a la eficacia y tolerabilidad, la dosis se puede incrementar posteriormente a Levitra 10 mg y 20 mg comprimidos recubiertos con película, o a Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables.

La dosis máxima recomendada en pacientes con insuficiencia hepática moderada (Child-Pugh B) es Levitra 10 mg en forma de comprimidos recubiertos con película (ver sección 5.2).

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables no deben utilizarse en pacientes con insuficiencia hepática moderada (Child-Pugh B) y grave (Child-Pugh C, ver sección 4.3)

Insuficiencia renal

No es necesario ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia renal leve o moderada.

En pacientes con insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <30 ml/min) debe considerarse una dosis inicial de Levitra 5 mg comprimidos recubiertos con película. En base a la eficacia y tolerabilidad, la dosis se puede incrementar con Levitra 10 mg y 20 mg comprimidos recubiertos con película, o con Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables.

Levitra comprimidos bucodispersables no debe utilizarse en pacientes con insuficiencia renal terminal (ver sección 4.3).

Población pediátrica

Levitra comprimidos bucodispersables no está indicado en menores de 18 años de edad. No existe indicación relevante para el uso de Levitra comprimidos bucodispersables en niños y adolescentes.

Uso en pacientes en tratamiento con otros medicamentos

Uso concomitante de inhibidores moderados o potentes del CYP 3A4

La dosis de vardenafilo debe ajustarse si se administran de forma concomitante con inhibidores moderados o potentes del CYP 3A4 (ver sección 4.5).

Forma de administración

Administración por vía oral.

El comprimido bucodispersable se coloca en la boca, sobre la lengua, donde se disolverá rápidamente con la saliva y se traga. Levitra comprimidos bucodispersables deben tomarse sin líquido e inmediatamente después de extraer el comprimido del blister.

Levitra comprimidos bucodispersables pueden tomarse con o sin alimento.

4.3 Contraindicaciones

Hipersensibilidad al principio activo o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 6.1.

La administración concomitante de vardenafilo con nitratos o con los que liberan óxido nítrico (como el nitrito de amilo) en cualquiera de sus formas está contraindicada (ver sección 4.5 y sección 5.1).

Levitra está contraindicado en pacientes que han perdido la visión en un ojo por haber sufrido un episodio de neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica (NOAI-NA), independientemente de si este episodio estuvo relacionado o no con la toma de un inhibidor de la PDE5 (ver sección 4.4).

No deben utilizarse medicamentos para el tratamiento de la disfunción eréctil en hombres para los que no es recomendable la actividad sexual (por ejemplo, pacientes con enfermedades cardiovasculares graves, como angina de pecho inestable, o con insuficiencia cardíaca grave [New York Heart Association III ó IV]).

No se ha estudiado la seguridad de vardenafilo en los siguientes subgrupos de pacientes y por lo tanto, hasta que se disponga de información adicional, su uso está contraindicado en:

- insuficiencia hepática grave (Child-Pugh C),
- insuficiencia renal terminal que requiera diálisis,
- hipotensión (presión arterial <90/50 mmHg),
- historia reciente de accidente isquémico cerebral o infarto de miocardio (en los últimos 6 meses),
- angina de pecho inestable, y enfermedades hereditarias degenerativas de la retina conocidas, tales como retinitis pigmentosa.

Está contraindicado el uso concomitante de vardenafilo con los inhibidores potentes del CYP3A4 ketoconazol e itraconazol (en su forma oral) en hombres de más de 75 años.

Está contraindicado el uso concomitante de vardenafilo con los inhibidores de la proteasa del VIH como ritonavir e indinavir, ya que son inhibidores muy potentes del CYP3A4 (ver sección 4.5).

La administración conjunta de inhibidores de la PDE5, incluyendo vardenafilo, con estimuladores de la guanilato ciclasa, como riociguat, está contraindicada ya que puede producir hipotensión sintomática de forma potencial (ver sección 4.5).

4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo

Es recomendable realizar una historia clínica y exploración física para diagnosticar la disfunción eréctil y determinar las causas subyacentes potenciales, antes de considerar el tratamiento farmacológico.

Antes de iniciar cualquier tratamiento de la disfunción eréctil, el médico debe considerar el estado cardiovascular de sus pacientes, ya que existe cierto grado de riesgo cardíaco asociado con la actividad sexual (ver sección 4.3). Vardenafilo tiene propiedades vasodilatadoras que dan lugar a disminuciones leves y transitorias de la presión arterial (ver sección 5.1). Pacientes con obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo, como por ejemplo, estenosis aórtica o estenosis subaórtica hipertrófica idiopática, pueden ser sensibles al efecto de los vasodilatadores, incluyendo los inhibidores de la fosfodiesterasa tipo 5.

Los medicamentos para el tratamiento de la disfunción eréctil se deben utilizar con precaución en pacientes con deformaciones anatómicas del pene (tales como angulación, fibrosis cavernosa o enfermedad de Peyronie) o en pacientes con antecedentes que puedan predisponer a priapismo (tales como anemia falciforme, mieloma múltiple o leucemia).

No se ha estudiado la seguridad y eficacia de la combinación de Levitra comprimidos bucodispersables con Levitra comprimidos recubiertos con película o con otros tratamientos para la disfunción eréctil. Por lo tanto, no se recomienda el uso de tales asociaciones.

La tolerabilidad de la dosis máxima de Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película puede ser menor en pacientes de edad avanzada (≥ 65 años de edad) (ver secciones 4.2 y 4.8).

Uso concomitante de alfabloqueantes

El uso concomitante de vardenafilo con alfabloqueantes puede producir hipotensión sintomática en algunos pacientes, ya que ambos son vasodilatadores. El tratamiento concomitante con vardenafilo sólo debe iniciarse si el paciente se encuentra estabilizado

con su tratamiento alfabloqueante. En los pacientes estabilizados con su tratamiento alfabloqueante, el tratamiento con vardenafilo deberá iniciarse con la dosis inicial más baja recomendada de 5 mg. Los pacientes tratados con alfabloqueantes no deben usar Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables. Vardenafilo puede administrarse en cualquier momento con tamsulosina o con alfuzosina. Con los restantes alfabloqueantes, debe considerarse un intervalo de tiempo entre la tomas cuando se prescriba vardenafilo concomitantemente (ver sección 4.5). En los pacientes que ya toman una dosis optimizada de vardenafilo, el tratamiento con alfabloqueantes deberá iniciarse con la dosis más baja. El incremento progresivo de la dosis del alfabloqueante puede dar lugar a una disminución adicional de la presión arterial en los pacientes que toman vardenafilo.

Uso concomitante de inhibidores del CYP 3A4

Debe evitarse la administración conjunta de vardenafilo con inhibidores potentes del CYP 3A4 tales como itraconazol y ketoconazol (forma oral), ya que al combinar estos medicamentos se alcanzan concentraciones plasmáticas muy altas de vardenafilo (ver sección 4.3 y sección 4.5).

Puede ser necesario ajustar la dosis de vardenafilo en caso de administración conjunta con inhibidores moderados del CYP 3A4, como por ejemplo, eritromicina o claritromicina (ver sección 4.2 y sección 4.5).

Tomar pomelo o zumo de pomelo con vardenafilo puede dar lugar a concentraciones plasmáticas elevadas del fármaco, por lo que debe evitarse esta combinación (ver sección 4.5).

Efectos en el intervalo QTc

Se ha demostrado que dosis únicas de 10 mg y 80 mg de vardenafilo por vía oral prolongan el intervalo QTc en una media de 8 mseg y 10 mseg, respectivamente. Por otro lado,

la administración concomitante de dosis únicas de 10 mg de vardenafilo con 400 mg de gatifloxacino, una sustancia activa con efecto comparable sobre el intervalo QTc, mostró un efecto aditivo sobre el intervalo QTc de 4 mseg, en comparación con la administración en monoterapia. Se desconoce el impacto clínico de estos cambios en el intervalo QT (ver sección 5.1).

Se desconoce la relevancia clínica de este hallazgo y no puede generalizarse a todo tipo de pacientes en cualquier circunstancia, ya que dependerá de los factores de riesgo y susceptibilidad individual que pueden presentarse en un determinado paciente en un momento dado. Es importante evitar la administración de medicamentos que puedan prolongar el intervalo QTc, como vardenafilo, en pacientes con factores de riesgo importantes, como por ejemplo, hipopotasemia, prolongación congénita del intervalo QT, administración concomitante de medicamentos antiarrítmicos clase IA (por ejemplo, quinidina, procainamida) o clase III (por ejemplo, amiodarona o sotalol).

Efectos en la visión

Se han notificado alteraciones de la visión y casos de neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica (NOAI-NA) relacionados con la toma de Levitra y otros inhibidores de la PDE5. El paciente debe ser advertido de que en caso de notar alteraciones de la visión de forma repentina debe interrumpir el tratamiento con Levitra y consultar inmediatamente con su médico (ver sección 4.3).

Efectos en el sangrado

Estudios in vitro con plaquetas humanas indican que vardenafilo por sí solo no posee efectos antiagregantes. No obstante, a concentraciones altas (supraterapéuticas), vardenafilo potencia el efecto antiagregante del dador de óxido nítrico, nitroprusiato sódico. En humanos, el vardenafilo tomado solo o en asociación con el ácido acetilsalicílico no

afecta el tiempo de hemorragia (ver sección 4.5). No existen datos de seguridad sobre la administración de vardenafilo a pacientes con trastornos hemorrágicos o con úlcera péptica activa. Por lo tanto, vardenafilo sólo debe administrarse a estos pacientes tras una evaluación cuidadosa del beneficio/riesgo.

Aspartamo

Este medicamento puede ser perjudicial para personas con fenilcetonuria porque contiene aspartamo que es una fuente de fenilalanina.

Sorbitol

Este medicamento contiene sorbitol. Los pacientes con intolerancia hereditaria a la fructosa no deben tomar este medicamento.

4.5 Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

Efectos de otros medicamentos sobre vardenafilo

Estudios in vitro

Vardenafilo se metaboliza principalmente por enzimas hepáticas vía citocromo P450 (CYP) isoforma 3A4, con cierta contribución de las isoformas CYP3A5 y CYP2C. Por lo tanto, los inhibidores de estas isoenzimas pueden reducir el aclaramiento de vardenafilo.

Estudios in vivo

La administración concomitante de indinavir (800 mg tres veces al día), un inhibidor de la proteasa del VIH e inhibidor potente del CYP3A4, con vardenafilo (10 mg) produjo un incremento de 16 veces en el AUC de vardenafilo y de 7 veces en la C_{\max} de vardenafi-

lo. A las 24 horas, los niveles plasmáticos de vardenafilo disminuyeron aproximadamente al 4% del nivel plasmático máximo de vardenafilo (C_{\max}).

La administración concomitante de vardenafilo (5 mg) con ritonavir (600 mg dos veces al día) produjo un incremento de 13 veces en la C_{\max} y de 49 veces en el AUC₀₋₂₄ de vardenafilo. La interacción es una consecuencia del bloqueo del metabolismo hepático de Levitra por ritonavir, un inhibidor muy potente del CYP3A4, que también inhibe el CYP2C9. Ritonavir prolongó significativamente la semivida de Levitra hasta 25,7 horas (ver sección 4.3).

La administración concomitante de ketoconazol (200 mg), un potente inhibidor del CYP3A4, con vardenafilo (5 mg) produjo un incremento de 10 veces en el AUC de vardenafilo y un incremento de 4 veces en la C_{\max} de vardenafilo (ver sección 4.4).

Aunque no se han realizado estudios de interacción específicos, cabe esperar que el uso concomitante de otros inhibidores potentes del CYP3A4 (tales como itraconazol) produzca niveles plasmáticos de vardenafilo comparables a los producidos por ketoconazol. Debe evitarse el uso concomitante de vardenafilo con inhibidores potentes del CYP3A4, tales como itraconazol y ketoconazol por vía oral (ver sección 4.3 y 4.4). En hombres mayores de 75 años, está contraindicado el uso de vardenafilo con itraconazol y ketoconazol (ver sección 4.3).

La administración concomitante de eritromicina (500 mg tres veces al día), un inhibidor del CYP3A4, con vardenafilo (5 mg) produjo un incremento de 4 veces en el AUC de vardenafilo y un incremento de 3 veces en la C_{\max} . Aunque no se ha realizado un estudio de interacción específico, cabe esperar que la administración concomitante de claritromicina produzca efectos similares en el AUC y C_{\max} de vardenafilo. Cuando se

utiliza en combinación con un inhibidor del CYP3A4, como por ejemplo, eritromicina o claritromicina, puede ser necesario un ajuste de la dosis de vardenafilo (ver sección 4.2 y sección 4.4).

La cimetidina (400 mg dos veces al día), un inhibidor inespecífico del citocromo P450, no tuvo efecto en el AUC y la C_{\max} al administrarse conjuntamente con vardenafilo (20 mg) a voluntarios sanos.

El zumo de pomelo es un inhibidor débil del metabolismo del CYP3A4 localizado en la pared intestinal; por lo tanto, puede producir pequeños incrementos en los niveles plasmáticos de vardenafilo (ver sección 4.4).

La farmacocinética de vardenafilo (20 mg) no se vio afectada por la administración conjunta con el antagonista H₂, ranitidina (150 mg dos veces al día), digoxina, warfarina, glibenclamida, alcohol (nivel máximo medio de alcohol en sangre de 73 mg/dl) o dosis únicas de antiácidos (hidróxido de magnesio/hidróxido de aluminio).

Aunque no se han realizado estudios de interacción específica con todos los medicamentos posibles, el análisis de los datos farmacocinéticos no mostró ningún efecto sobre la farmacocinética del vardenafilo cuando se administró conjuntamente con los siguientes medicamentos: ácido acetilsalicílico, inhibidores de la ECA, betabloqueadores, inhibidores débiles del CYP3A4, diuréticos y medicamentos para el tratamiento de la diabetes (sulfonilureas y metformina).

Efectos del vardenafilo sobre otros medicamentos

No existen datos sobre la interacción de vardenafilo con inhibidores inespecíficos de la fosfodiesterasa como la teofilina o el dipiridamol.

Estudios in vivo

En un estudio en 18 varones sanos, al administrar vardenafilo (10 mg) a diferentes intervalos de tiempo (entre 1 h y 24 h) antes de una dosis sublingual de nitroglicerina (0.4 mg), no se observó ninguna potenciación del efecto hipotensor de la nitroglicerina. A la dosis de 20 mg, vardenafilo potenció el efecto hipotensor de la nitroglicerina sublingual (0,4 mg) tomada al cabo de 1 y 4 horas de la administración de vardenafilo en sujetos sanos de mediana edad. No se observó efecto sobre la presión arterial cuando la toma de nitroglicerina se realizó 24 horas después de una dosis única de 20 mg de vardenafilo. Sin embargo, no se dispone de información sobre la posible potenciación de los efectos hipotensores de los nitratos por parte de vardenafilo en pacientes, por lo que el tratamiento conjunto está contraindicado (ver sección 4.3).

Nicorandil es un híbrido entre un activador de los canales de potasio y un nitrato. Debido a su componente nitrato, tiene el potencial de presentar una interacción grave con vardenafilo.

Como la monoterapia con alfabloqueantes puede causar un marcado descenso de la presión arterial, especialmente hipotensión postural y síncope, se han realizado estudios de interacción con vardenafilo. En dos estudios de interacción realizados en voluntarios sanos normotensos, tras una titulación forzada de los alfabloqueantes tamsulosina o terazosina a dosis elevadas, se observó hipotensión (sintomática, en algunos casos) en un número significativo de individuos tras la co-administración de vardenafilo. En los individuos tratados con terazosina, la hipotensión se observó con mayor frecuencia cuando vardenafilo y terazosina se habían administrado conjuntamente que cuando estos se habían administrado separados por un intervalo de 6 horas.

En base a los resultados de los estudios de interacción con vardenafilo en pacientes con hiperplasia prostática benigna (HPB) con un tratamiento estable con tamsulosina, terazosina o alfuzosina:

- Cuando se administró vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) a dosis de 5, 10 ó 20 mg durante un tratamiento estable con tamsulosina, no se produjo reducción sintomática de la presión arterial, si bien 3 de 21 individuos tratados con tamsulosina presentaron una presión arterial sistólica transitoria en bipedestación inferior a 85 mmHg.
- Cuando se administró vardenafilo 5 mg (comprimidos recubiertos con película) simultáneamente con una dosis de 5 mg ó 10 mg de terazosina, uno de 21 pacientes experimentó hipotensión postural sintomática. No se observó hipotensión cuando entre la administración de vardenafilo 5 mg y de terazosina había transcurrido un intervalo de 6 horas.
- Cuando se administró vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) a dosis de 5 ó 10 mg durante un tratamiento estable con alfuzosina, en comparación con placebo, no se produjo reducción sintomática de la presión arterial.

Por ello, el tratamiento concomitante sólo debe iniciarse si el paciente está estabilizado con su tratamiento alfabloqueante. En los pacientes estabilizados con el tratamiento alfabloqueante, debe iniciarse la administración de vardenafilo con la dosis inicial inferior recomendada de 5 mg. Vardenafilo puede administrarse en cualquier momento con tamsulosina o alfuzosina. Con los restantes alfabloqueantes, debe considerarse una separación temporal entre los dos tratamientos cuando se prescriba vardenafilo concomitantemente (ver sección 4.4).

Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables no debe usarse como dosis inicial en pacientes tratados con alfabloqueantes (ver sección 4.4).

No se han observado interacciones significativas al administrar warfarina (25 mg), que se metaboliza a través del CYP2C9, o con digoxina (0,375 mg) conjuntamente con vardenafilo (20 mg). La biodisponibilidad relativa de la glibenclamida (3,5 mg) no se vio afectada por la administración conjunta con vardenafilo (20 mg). En un estudio específico en que vardenafilo (20 mg) fue administrado conjuntamente con nifedipino de liberación prolongada (30 mg ó 60 mg) en pacientes hipertensos, se observó una reducción adicional de la presión arterial sistólica en posición supina de 6 mmHg y de la presión arterial diastólica en posición supina de 5 mmHg, acompañadas de un aumento de la frecuencia cardíaca de 4 lpm.

Al administrar conjuntamente vardenafilo (20 mg comprimidos recubiertos con película) y alcohol (nivel máximo medio de alcohol en sangre de 73 mg/dl), no se potenciaron los efectos del alcohol en la presión arterial y la frecuencia cardíaca, ni tampoco se alteró la farmacocinética de vardenafilo.

Vardenafilo (10 mg) no potenció el alargamiento del tiempo de hemorragia causado por el ácido acetilsalicílico (2 x 81 mg).

Riociguat

Estudios preclínicos mostraron un efecto aditivo de la disminución de la presión arterial sistémica cuando se combinaron inhibidores de la PDE5 con riociguat. Riociguat ha mostrado en ensayos clínicos que aumenta los efectos hipotensores de los inhibidores de la PDE5. En la población estudiada no hubo indicios de un efecto clínico favorable de dicha combinación. El uso concomitante de riociguat con inhibidores de la PDE5, incluyendo vardenafilo, está contraindicado (ver sección 4.3).

4.6 Fertilidad, embarazo y lactancia

El uso de Levitra no está indicado en mujeres. No hay estudios de vardenafilo en mujeres embarazadas.

No hay datos disponibles de los efectos sobre la fertilidad.

4.7 Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas

No se han realizado estudios de los efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas.

En los ensayos clínicos con vardenafilo se informó de mareos y trastornos visuales, por lo tanto, los pacientes deben saber cómo reaccionan a Levitra, antes de conducir o utilizar maquinaria.

4.8 Reacciones adversas

Las reacciones adversas comunicadas en estudios clínicos con Levitra comprimidos recubiertos con película o con Levitra 10 mg comprimidos bucodispersables fueron en general transitorias y de naturaleza leve a moderada. La reacción adversa más frecuentemente notificada y manifiesta en $\geq 10\%$ de los pacientes fue cefalea.

Las reacciones adversas se enumeran según la convención MedDRA sobre frecuencia: muy frecuente ($\geq 1/10$), frecuentes, ($>1/100$ a $<1/10$), poco frecuentes ($>1/1.000$ a $<1/100$), raras ($>1/10.000$ a $<1/1.000$) y frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles).

En cada grupo de frecuencia, las reacciones adversas se presentan en orden de gravedad decreciente. Se han notificado las siguientes reacciones adversas:

Clasificación de órganos del sistema MedDRA	Muy frecuentes (≥1/10)	Frecuentes (>1/100 a <1/10)	Poco frecuentes (>1/1.000 a <1/100)*	Raras (>1/10.000 a <1/1.000)	No conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Infecciones e infestaciones				Conjuntivitis	
Trastornos del sistema inmunológico			Edema alérgico y angioedema	Reacción alérgica	
Trastornos psiquiátricos			Trastornos del sueño	Ansiedad	
Trastornos del sistema nervioso	Cefalea	Mareos	Somnolencia Parestesia y disestesia	Síncope Convulsiones Amnesia	
Trastornos oculares			Trastornos visuales Hiperemia ocular Cromatopsia Dolor y malestar ocular Fotofobia	Aumento de la presión intraocular Aumento del lagrimeo	Neuropatía óptica isquémica anterior no arterítica Alteraciones de la visión
Trastornos del oído y del laberinto			Tinnitus Vértigo		Sordera súbita
Trastornos cardíacos			Palpitaciones Taquicardia	Infarto de miocardio Taquiarritmia ventricular Angina de pecho	
Trastornos vasculares		Enrojecimiento facial		Hipertensión Hipotensión	
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos		Congestión nasal	Disnea Congestión de los senos	Epistaxis	
Trastornos gastrointestinales		Dispepsia	Reflujo gastroesofágico Gastritis Dolor abdominal o gastrointestinal Diarrea Vómitos Náusea Sequedad de la boca		

Clasificación de órganos del sistema MedDRA	Muy frecuentes (≥1/10)	Frecuentes (>1/100 a <1/10)	Poco frecuentes (>1/1.000 a <1/100)*	Raras (>1/10.000 a <1/1.000)	No conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Trastornos hepatobiliares			Aumento de las transaminasas	Aumento de la gamma glutamil transferasa	
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo			Eritema Erupción cutánea	Reacción de fotosensibilidad	
Trastornos músculoesqueléticos y del tejido conjuntivo			Dolor de espalda Aumento de creatinfosfoquinasa en sangre Mialgia Aumento del tono muscular y calambres		
Trastornos renales y urinarios					Hematuria
Trastornos del aparato reproductor y de la mama			Aumento de las erecciones	Priapismo	Hemorragia peniana Hematospermia
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración			Sensación de malestar	Dolor torácico	

En los ensayos clínicos y en los programas de notificación espontánea post-comercialización se han notificado casos de hemorragia peniana, hematospermia y hematuria con el uso de inhibidores de la PDE5, incluido vardenafilo.

A la dosis de Levitra 20 mg comprimidos recubiertos con película, los pacientes de edad avanzada (≥65 años de edad) presentaron mayor frecuencia de cefalea (16,2% versus 11,8%) y mareo (3,7% versus 0,7%) que los pacientes más jóvenes (<65 años de edad). En general, la incidencia de reacciones adversas (especialmente la de “mareo”) se ha observado que es ligeramente superior en los pacientes con historia de hipertensión

Informes post-comercialización con otro fármaco de esta misma clase:

Trastornos vasculares:

Se han notificado acontecimientos cardiovasculares graves en estudios post-comercialización con otro fármaco de la misma clase, éstas incluyen: hemorragia cerebrovascular, muerte súbita de origen cardíaco, accidente isquémico transitorio, angina inestable y arritmia ventricular.

Notificación de sospechas de reacciones adversas

Es importante notificar sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización. Ello permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del sistema nacional de notificación incluido en el Anexo V.

4.9 Sobredosis

En estudios realizados en voluntarios con dosis únicas, se toleraron dosis de hasta e incluso 80 mg de vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) al día sin presentar reacciones adversas graves.

Al administrar vardenafilo a dosis superiores y con mayor frecuencia que la pauta de dosis recomendada (40 mg en comprimidos recubiertos con película dos veces al día), se registraron casos de dolor de espalda intenso, pero no se asociaron a toxicidad muscular o neurológica.

En casos de sobredosis, se deben tomar las medidas normales de apoyo. Dado que vardenafilo se une intensamente a las proteínas plasmáticas y no se elimina de forma significativa por la orina, no se espera que la diálisis renal acelere el aclaramiento del fármaco.

5. Propiedades farmacológicas

5.1 Propiedades farmacodinámicas

Grupo fármacoterapéutico: Urológicos. Fármacos utilizados en disfunción eréctil, código ATC: G04BE09.

Vardenafilo es una terapia de administración oral para mejorar la función eréctil en hombres con disfunción eréctil. En condiciones normales, es decir, con estimulación sexual, restaura la función eréctil deteriorada mediante el aumento del flujo sanguíneo al pene.

La erección del pene es un proceso hemodinámico. Durante la estimulación sexual, se libera óxido nítrico, que activa la enzima guanilato-ciclasa, lo que da lugar a un aumento del nivel de guanosina monofosfato cíclica (GMPc) en el cuerpo cavernoso. Esto a su vez, produce la relajación del músculo liso, permitiendo una mayor afluencia de sangre al pene. El nivel de GMPc se regula mediante la tasa de síntesis vía guanilatociclasa y la tasa de degradación por parte de las fosfodiesterasas hidrolizantes (PDEs).

Vardenafilo es un inhibidor potente y selectivo de la fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5) específica del GMPc, principal PDE en el cuerpo cavernoso humano. Vardenafilo aumenta potentemente el efecto del óxido nítrico endógeno en el cuerpo cavernoso, por inhibición de la PDE5. Cuando se libera óxido nítrico en respuesta a la estimulación sexual, la inhibición de la PDE5 por vardenafilo ocasiona un aumento de los niveles de GMPc en el cuerpo cavernoso. Por lo tanto, es necesario que haya estimulación sexual para que vardenafilo produzca sus efectos terapéuticos beneficiosos.

Los estudios *in vitro* han demostrado que vardenafilo es más potente sobre la PDE5 que sobre otras fosfodiesterasas conocidas (más de 15 veces en relación con la PDE6, más de

130 veces en relación con la PDE1, más de 300 veces en relación con la PDE11, y más de 1000 veces en relación con las fosfodiesterasas PDE2, PDE3, PDE4, PDE7, PDE8, PDE9 y PDE10).

En un estudio utilizando pletismografía peneana (RigiScan), vardenafilo 20 mg produjo en algunos hombres erecciones consideradas como suficientes para la penetración (60% de rigidez en RigiScan) tan sólo 15 minutos tras la administración. La respuesta global de estos individuos a vardenafilo fue estadísticamente significativa, en comparación con placebo, a los 25 minutos de la dosificación.

Vardenafilo produce una disminución leve y transitoria de la presión arterial que, en la mayoría de casos, no se traducen en efectos clínicos. En comparación con placebo, la disminución máxima media de la presión arterial sistólica en posición supina, tras dosis de 20 mg y 40 mg de vardenafilo fueron de - 6,9 mmHg (20 mg) y - 4,3 mmHg (40 mg). Estos efectos concuerdan con los efectos vasodilatadores de los inhibidores de la PDE5 y se deben probablemente al aumento de los niveles de GMPc en las células del músculo liso vascular. Dosis orales únicas y múltiples de vardenafilo de hasta 40 mg en voluntarios sanos no produjeron cambios clínicamente relevantes en el ECG.

En un ensayo de dosis única, a doble ciego, cruzado y randomizado en 59 hombres sanos, se compararon los efectos de vardenafilo (10mg y 80mg), sildenafil (50 mg y 400 mg) y placebo en el intervalo QT. Como control interno activo se incluyó moxifloxacino (400 mg). Se midieron los efectos sobre el intervalo QT una hora después de la dosificación (t_{\max} promedio para vardenafilo). El objetivo principal del estudio era descartar un efecto superior a 10 mseg (es decir, demostrar la ausencia de efecto) en el intervalo QTc de una dosis única de 80 mg de vardenafilo por vía oral, en comparación con placebo. Las determinaciones se llevaron a cabo a partir del cambio en la fórmula de corrección de

Fridericia ($QTcF=QT/RR^{1/3}$) una hora después de la dosificación, en relación al valor basal. Los resultados de vardenafilo mostraron un aumento del QTc (Fridericia) de 8mseg (IC 90%: 6 - 9) y 10 mseg (IC 90%: 8 - 11) con las dosis de 10 mg y 80 mg, en comparación con placebo, así como un aumento en el $QTci$ de 4mseg (IC 90%: 3 - 6) y 6 mseg (IC90%: 4 - 7) a las dosis de 10 mg y 80 mg, una hora después de la administración, en comparación con placebo. En t_{max} , el cambio medio en $QTcF$ para vardenafilo 80 mg fue el único valor que estuvo fuera de los límites establecidos por el estudio (valor medio 10 mseg, IC90% (8 - 11)). Al utilizar la fórmula de corrección individual, ninguno de los valores estuvo fuera de los límites.

En un ensayo post-comercialización con 44 voluntarios sanos, se administraron dosis únicas de 10 mg de vardenafilo ó 50 mg de sildenafil de forma concomitante con 400 mg de gatifloxacino, un fármaco con efecto comparable sobre el intervalo QT. Tanto vardenafilo como sildenafil mostraron un aumento de efecto QTc (Fridericia) de 4 mseg (vardeafilo) y 5 mseg (sildenafil) en comparación con el fármaco en monoterapia. Se desconoce el impacto clínico real de estos cambios en el intervalo QT.

Información adicional sobre ensayos clínicos con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables

La eficacia y seguridad de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables se han demostrado individualmente en una amplia población, mediante dos estudios que incluyeron 701 pacientes con disfunción eréctil, randomizados y que fueron tratados durante 12 semanas. La distribución de los pacientes en los subgrupos predefinidos incluyó pacientes de edad avanzada (51%), pacientes con historia de diabetes mellitus (29%), dislipidemia (39%) e hipertensión (40%).

En los datos agrupados de los dos ensayos realizados con vardenafilo 10 mg compri-

dos bucodispersables, las puntuaciones del dominio IIEF-EF fueron significativamente superiores con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables, comparado con placebo.

Un porcentaje del 71% de todas las relaciones sexuales reportados en los ensayos clínicos tuvieron una penetración satisfactoria, en comparación con el 44% de todos los intentos en el grupo placebo. Estos resultados se reflejaron también en los subgrupos, en pacientes de edad avanzada (65%), con antecedentes de diabetes mellitus (63%), pacientes con antecedentes de dislipidemia (66%) e hipertensión (70%) de todos los intentos sexuales declarados comunicaron que la penetración fue satisfactoria.

Alrededor del 63% de todas las relaciones sexuales con 10 mg comprimidos bucodispersables fueron satisfactorias en cuanto al mantenimiento de la erección, en comparación con aproximadamente el 26% de todos los intentos sexuales controlados con placebo. En los subgrupos predefinidos, el 57% (pacientes de edad avanzada), el 56% (pacientes con antecedentes de diabetes mellitus), el 59% (pacientes con antecedentes de dislipidemia) y el 60% (pacientes con antecedentes de hipertensión) de todos los intentos comunicados con vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables comprimidos fueron satisfactorios en cuanto al mantenimiento de la erección.

Información adicional sobre ensayos clínicos

En ensayos clínicos, vardenafilo se administró a más de 17.000 hombres con disfunción eréctil (DE) y edades comprendidas entre 18 y 89 años, muchos de los cuales presentaban múltiples patologías concomitantes. Más de 2.500 pacientes han sido tratados con vardenafilo durante seis meses o más y de ellos, más de 900 pacientes han sido tratados durante un año o más.

Estuvieron representados los siguientes grupos de pacientes: edad avanzada (22%), pacientes hipertensos (35%), diabetes mellitus (29%), cardiopatía isquémica y otras patologías cardiovasculares (7%), insuficiencia pulmonar crónica (5%), hiperlipidemia (22%), depresión (5%), prostatectomía radical (9%). Los siguientes grupos no estuvieron bien representados en los ensayos clínicos: edad avanzada (más de 75 años, 2,4%) y pacientes con ciertas patologías cardiovasculares (ver sección 4.3). No se han realizado ensayos clínicos en pacientes con enfermedades del SNC (excepto en pacientes con lesión medular), pacientes con insuficiencia renal o hepática graves, pacientes con cirugía de pelvis (excepto prostatectomía con preservación bilateral de la inervación), pacientes con traumatismo pélvico, pacientes que han sido sometidos a radioterapia, pacientes con deseo sexual hipoactivo o pacientes con deformidad anatómica del pene.

En ensayos principales, el tratamiento con vardenafilo (comprimidos recubiertos con película) produjo una mejoría de la función eréctil en comparación con placebo. En el pequeño número de pacientes que intentaron mantener relaciones sexuales hasta cuatro o cinco horas después de la administración, la tasa de éxito en la penetración y de mantenimiento de la erección fue siempre mayor que con placebo.

En estudios de dosis fija (comprimidos recubiertos con película) realizados en una amplia población de hombres con disfunción eréctil, un 68% (5 mg), un 76% (10 mg) y un 80% (20 mg) de los pacientes experimentaron penetraciones satisfactorias (SEP 2) en comparación con un 49% de los pacientes con placebo, durante un período de estudio de tres meses. La capacidad de mantener la erección (SEP 3) en esta amplia población con DE se obtuvo en un 53% (5 mg), un 63% (10 mg) y un 65% (20 mg), en comparación con un 29% en los tratados con placebo.

En los datos agrupados a partir de los ensayos de eficacia más importantes, la proporción de pacientes que experimentaron una penetración satisfactoria con vardenafilo fue la siguiente: disfunción eréctil psicógena (77 - 87%), disfunción eréctil mixta (69 - 83%), disfunción eréctil orgánica (64 - 75%), edad avanzada (52 - 75%), cardiopatía isquémica (70 - 73%), hiperlipidemia (62 - 73%), insuficiencia pulmonar crónica (74 - 78%), depresión (59 - 69%), y pacientes tratados conjuntamente con antihipertensivos (62 - 73%).

En un ensayo clínico comparativo con placebo, realizado en pacientes con diabetes mellitus, dosis de 10 mg y 20 mg de vardenafilo mejoraron significativamente la puntuación de la función eréctil, de la capacidad de obtener y mantener una erección suficientemente prolongada para desarrollar una relación sexual satisfactoria y de la rigidez del pene. Las proporciones de respuesta a la capacidad de obtener y mantener una erección fueron de un 61% y un 49% con 10 mg y de un 64% y un 54% con 20 mg de vardenafilo, en comparación con un 36% y un 23% con placebo, en pacientes que completaron un tratamiento de tres meses.

En un ensayo clínico en pacientes post-prostatectomía, dosis de 10 mg y 20 mg de vardenafilo mejoraron significativamente, en comparación con placebo, la puntuación de la función eréctil, de la capacidad de obtener y mantener una erección suficientemente prolongada para desarrollar una relación sexual satisfactoria y de la rigidez del pene. Las proporciones de respuesta a la capacidad de obtener y mantener una erección fueron de un 47% y 37% con 10 mg y de 48% y 34% con 20 mg de vardenafilo, en comparación con 22% y 10% con placebo, en pacientes que completaron un tratamiento de tres meses.

En un ensayo clínico con vardenafilo a dosis flexibles comparado con placebo en pacientes con lesión medular, vardenafilo mejoró significativamente la puntuación del dominio función eréctil, la capacidad para obtener y mantener una erección el tiempo suficiente

para un acto sexual satisfactorio y la rigidez del pene. El número de pacientes que recombraron una puntuación normal para el dominio IIEF (>26) fue del 53%, en comparación con el 9% en el grupo placebo. Los índices de respuesta observados para la capacidad de obtener y mantener una erección fueron del 76% y 59% con vardenafilo, en comparación con el 41% y 22% observados con placebo, en los pacientes que completaron los tres meses de tratamiento, los cuales fueron clínica y estadísticamente significativos ($p<0,001$).

La seguridad y eficacia de vardenafilo se mantuvo en los estudios a largo plazo.

Población pediátrica

La Agencia Europea de Medicamentos ha eximido al titular de la obligación de presentar los resultados de los ensayos realizados en los diferentes subgrupos de la población pediátrica en el tratamiento de la disfunción eréctil (ver sección 4.2 para consultar la información sobre el uso en la población pediátrica).

5.2 Propiedades farmacocinéticas

Los estudios de bioequivalencia han demostrado que vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables no es bioequivalente con vardenafilo 10 mg comprimidos recubiertos con película; por consiguiente, la formulación bucodispersable no debe utilizarse como si fuera equivalente a vardenafilo 10 mg comprimidos recubiertos con película.

Absorción

En vardenafilo comprimidos recubiertos con película, vardenafilo se absorbe rápidamente, obteniéndose en algunos hombres concentraciones plasmáticas máximas incluso a los 15 minutos después de la administración oral. Sin embargo, en el 90% de los casos, la concentración plasmática máxima se consigue entre los 30 y los 120 minutos (mediana 60

minutos) después de la administración oral en ayunas. La biodisponibilidad oral absoluta media es del 15%. Tras la administración oral de vardenafilo, el AUC y la C_{\max} aumentaron de forma casi proporcional a la dosis dentro del rango de dosis recomendado (5 - 20 mg).

Cuando vardenafilo 10 mg comprimidos recubiertos con película se toma con una comida con un alto contenido en grasas (57% de grasa), la velocidad de absorción se reduce, con un aumento de la mediana del t_{\max} del orden de 1 hora y una reducción media de C_{\max} del 20%. El AUC de vardenafilo no se ve afectado. Tras una comida con un 30% de grasa, la velocidad y el grado de absorción de vardenafilo (t_{\max} , C_{\max} y AUC) se mantienen inalterados en comparación con la administración en ayunas.

Vardenafilo se absorbe rápidamente tras la administración de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables sin agua. La mediana del tiempo para alcanzar una C_{\max} varió entre 45 y 90 minutos y fue similar o ligeramente más lenta (en 8 - 45 minutos) en comparación con los comprimidos recubiertos con película. El AUC media de vardenafilo aumentó en un 21 - 29% (pacientes con DE de edad media y edad avanzada) ó 44% (sujetos jóvenes sanos) con 10 mg en forma de comprimidos bucodispersables en comparación con los comprimidos recubiertos con película, como consecuencia de la absorción local en la cavidad bucal de una pequeña cantidad de sustancia activa. No se observó una diferencia consistente en la C_{\max} entre los comprimidos bucodispersables y los comprimidos recubiertos con película.

En sujetos que tomaron vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables con una comida con alto contenido en grasas no se observó un efecto sobre el AUC y t_{\max} de vardenafilo, mientras que la C_{\max} se redujo en un 35% tras la comida. En base a estos resultados, vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables pueden tomarse con o sin alimento.

Si vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables se toma con agua, el AUC se reduce en un 29%, la C_{\max} no se modifica y la mediana del t_{\max} se reduce en 60 minutos, en comparación con la toma sin agua. Vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables debe tomarse sin líquido.

Distribución

El volumen medio de distribución en estado de equilibrio para vardenafilo es de 208 l, indicando una distribución tisular del fármaco.

Vardenafilo y su metabolito principal circulante (M1) se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas (aproximadamente en un 95% para vardenafilo o M1). La unión a proteínas por parte de vardenafilo y de M1 es independiente de las concentraciones totales de ambos.

En base a las determinaciones de vardenafilo en el semen de individuos sanos 90 minutos después de la administración, no más del 0.00012% de la dosis administrada puede aparecer en el semen de los pacientes.

Biotransformación

Vardenafilo en comprimidos recubiertos con película se metaboliza predominantemente por metabolismo hepático a través del citocromo P450 isoforma (CYP) 3A4, con una cierta contribución de las isoformas CYP3A5 y CYP2C.

En humanos, el metabolito circulante principal (M1) resulta de la desetilación de vardenafilo y está sometido a un posterior metabolismo con una semivida de eliminación plasmática de aproximadamente 4 horas. Partes del M1 se encuentran en forma de glucurónido en la circulación sistémica. El metabolito M1 muestra un perfil de selectividad

de fosfodiesterasa similar al vardenafilo y una potencia in vitro para la fosfodiesterasa tipo 5 de aproximadamente un 28%, en comparación con vardenafilo, resultando en una contribución en la eficacia del 7%, aproximadamente.

La media de la semivida terminal de vardenafilo en pacientes que han tomado vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables osciló entre las 4 - 6 horas. La semivida de eliminación del metabolito M1 oscila entre las 3 y las 5 horas, al igual que la de vardenafilo.

Eliminación

El aclaramiento total de vardenafilo es de 56 l/h, con una semivida terminal resultante de 4-5 horas, aproximadamente. Tras la administración oral, vardenafilo se excreta en forma de metabolitos predominantemente en heces (aproximadamente el 91 - 95% de la dosis administrada) y en menor medida en orina (aproximadamente el 2 - 6% de la dosis administrada).

Farmacocinética en grupos especiales de pacientes

Pacientes de edad avanzada

El aclaramiento hepático de vardenafilo en voluntarios de edad avanzada sanos (a partir de 65 años) se vio reducido, en comparación con voluntarios sanos más jóvenes (18 - 45 años). Por término medio, los pacientes de edad avanzada que tomaron vardenafilo comprimidos recubiertos con película presentaron un aumento del 52% en el AUC y del 34% en la C_{max} , en comparación con los voluntarios más jóvenes (ver sección 4.2).

El AUC y C_{max} en pacientes de edad avanzada (a partir de 65 años) que tomaron vardenafilo comprimidos bucodispersables aumentaron en un 31 - 39% y en un 16 - 21%, respectivamente, en comparación con los pacientes de 45 años de edad y edades inferiores. Vardenafilo no se acumuló en el plasma de los pacientes de 45 años de edad y edades

inferiores ni tampoco en aquellos con 65 años o más, tras la administración de vardenafilo 10 mg comprimidos bucodispersables una vez al día durante 10 días.

Insuficiencia renal

En voluntarios con insuficiencia renal de leve a moderada (aclaramiento de creatinina 30–80 ml/min), la farmacocinética de vardenafilo fue similar a la registrada en un grupo control con una función renal normal. En voluntarios con insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <30 ml/min) el valor medio del AUC aumentó un 21% y el valor medio de la C_{\max} disminuyó en un 23%, en comparación con voluntarios sin insuficiencia renal. No se observó una correlación estadísticamente significativa entre el aclaramiento de creatinina y la exposición a vardenafilo (AUC y C_{\max}) (ver sección 4.2). No se ha estudiado la farmacocinética de vardenafilo en pacientes sometidos a diálisis (ver sección 4.3).

Insuficiencia hepática

En pacientes con insuficiencia hepática leve o moderada (Child-Pugh A y B), el aclaramiento de vardenafilo se redujo de forma proporcional al grado de insuficiencia hepática. En pacientes con insuficiencia hepática leve (Child-Pugh A), los valores medios de AUC y C_{\max} aumentaron un 17% y 22%, respectivamente, en comparación con los individuos de control sanos. En pacientes con insuficiencia moderada (Child-Pugh B), los valores medios de AUC y C_{\max} aumentaron un 160% y 133%, respectivamente, en comparación con los individuos de control sanos (ver sección 4.2). No se ha estudiado la farmacocinética de vardenafilo en pacientes con insuficiencia hepática grave (Child-Pugh C) (ver sección 4.3).

5.3 Datos preclínicos sobre seguridad

Los datos de los estudios no clínicos no muestran riesgos especiales para los seres humanos, según los estudios convencionales de seguridad farmacológica, toxicidad a dosis repetidas, genotoxicidad, potencial carcinogénico, toxicidad para la reproducción.

6. Datos farmacéuticos

6.1 Lista de excipientes

Aspartamo (E951).

Sabor a menta.

Estearato de magnesio.

Crospovidona.

Manitol (E421).

Sílica coloidal hidratada.

Sorbitol (E420).

6.2 Incompatibilidades

No procede.

6.3 Período de validez

3 años.

6.4 Precauciones especiales de conservación

Conservar en el envase original para protegerlo de la luz y de la humedad.

6.5 Naturaleza y contenido del envase

1 x1 comprimido bucodispersable en blister perforado unidosis alu/alu,

2 x 1 comprimidos bucodispersables en blisters perforados unidosis alu/alu,

4 x 1 comprimidos bucodispersables en blisters perforados unidosis alu/alu,
8 x 1 comprimidos bucodispersables en blisters perforados unidosis alu/alu.

Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envases

6.6 Precauciones especiales de eliminación

Ninguna especial para su eliminación.

7. Titular de la autorización de comercialización

Bayer Pharma AG, 13342 Berlin, Alemania

8. Número(s) de autorización de comercialización

EU/1/03/248/013-016

9. Fecha de la primera autorización/renovación de la autorización

Fecha de la primera autorización: 6 de Marzo de 2003

Fecha de la última renovación: 6 de Marzo de 2008

10. Fecha de la revisión del texto

La información detallada de este medicamento está disponible en la página web de la Agencia Europea de Medicamentos [http:// www.ema.europa.eu/](http://www.ema.europa.eu/).

ANEXO 2

CUESTIONARIO IIEF

En los últimos 6 meses:

1. ¿Cómo califica su confianza de poder lograr y mantener una erección?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> Sin actividad sexual | 0 punto |
| <input type="checkbox"/> Muy baja | 1 punto |
| <input type="checkbox"/> Baja | 2 puntos |
| <input type="checkbox"/> Regular | 3 puntos |
| <input type="checkbox"/> Alta | 4 puntos |
| <input type="checkbox"/> Muy alta | 5 puntos |

2. ¿Cuando tuvo erecciones con estimulación sexual. ¿Con qué frecuencia sus erecciones fueron lo suficientemente duras para realizar la penetración?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> No intentó realizar el acto sexual o coito | 0 punto |
| <input type="checkbox"/> Casi nunca o nunca | 1 punto |
| <input type="checkbox"/> Pocas veces (menos de la mitad de las veces) | 2 puntos |
| <input type="checkbox"/> Algunas veces (la mitad de las veces) | 3 puntos |
| <input type="checkbox"/> Muchas veces (más de la mitad de las veces) | 4 puntos |
| <input type="checkbox"/> Casi siempre o siempre | 5 puntos |

3. Durante el acto sexual o coito. ¿Con qué frecuencia fue capaz de mantener la erección después de haber penetrado a su pareja?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> No intentó realizar el acto sexual o coito | 0 punto |
| <input type="checkbox"/> Casi nunca o nunca | 1 punto |
| <input type="checkbox"/> Pocas veces (menos de la mitad de las veces) | 2 puntos |
| <input type="checkbox"/> Algunas veces (la mitad de las veces) | 3 puntos |
| <input type="checkbox"/> Muchas veces (más de la mitad de las veces) | 4 puntos |
| <input type="checkbox"/> Casi siempre o siempre | 5 puntos |

4. Durante el acto sexual o coito. ¿Qué tan difícil fue mantener la erección hasta el final del acto sexual o coito?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> No intentó realizar el acto sexual o coito | 0 punto |
| <input type="checkbox"/> Extremadamente difícil | 1 punto |
| <input type="checkbox"/> Muy difícil | 2 puntos |
| <input type="checkbox"/> Difícil | 3 puntos |
| <input type="checkbox"/> Poco difícil | 4 puntos |
| <input type="checkbox"/> Sin dificultad | 5 puntos |

5. ¿Cuándo intentó realizar el acto sexual o coito, qué tan seguido fue satisfactorio para usted?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> No intentó realizar el acto sexual o coito | 0 punto |
| <input type="checkbox"/> Casi nunca o nunca | 1 punto |
| <input type="checkbox"/> Pocas veces (menos de la mitad de las veces) | 2 puntos |
| <input type="checkbox"/> Algunas veces (la mitad de las veces) | 3 puntos |
| <input type="checkbox"/> Muchas veces (más de la mitad de las veces) | 4 puntos |
| <input type="checkbox"/> Casi siempre o siempre | 5 puntos |

Resultado:

Si la puntuación es de 21 o menor, el paciente muestra signos de disfunción eréctil.